



SKRIPSI - TK 141581

**PENGARUH SIKLUS PENCAHAYAAN TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN PRODUKTIVITAS LIPID
MIKROALGA *Botryococcus Braunii* TERMUTASI UV-B
DAN ALAMI**

Disusun oleh :

Cecilia

2313 100 070

Wahyu Dwi Kristian

2313 100 138

Dosen Pembimbing :

Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng

NIP. 1966 05 23 1991 02 1001

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2017**



FINAL PROJECT - TK 141581

**THE EFFECT OF LIGHT CYCLE ON THE GROWTH
AND LIPID PRODUCTIVITY OF MICROALGAE
Botryococcus braunii UV-B RAYS MUTATED AND
NATURAL**

**By :
Viktor Adrian
2313 100 022**

**Raja Panal Simanullang
2313 100 124**

**Advisor :
Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng
NIP. 1966 05 23 1991 02 1001**

**DEPARTMENT OF CHEMICAL ENGINEERING
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

“Pengaruh Siklus Pencahayaann terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B dan Alami”

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Departemen Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

Cecilia
Wahyu Dwi Kristian

NRP. 2313 100 070
NRP. 2313 100 138

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng
(Pembimbing)
2. Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D
(Penguji I)
3. Hakun Wirawasista A., S.T., M.MT., Ph.D
(Penguji II)
4. Ir. Nuniek Hendrianie, M.T.
(Penguji III)

Arief
.....

Setiyo
.....

Hakun
.....

Nuniek
.....



Surabaya, Juli 2017

PENGARUH SIKLUS PENCAHAYAAN TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PRODUKTIVITAS LIPID MIKROALGA *Botryococcus braunii* TERMUTASI UV-B DAN ALAMI

Nama / NRP :

1. Cecilia NRP. 2313 100 070

2. Wahyu Dwi Kristian NRP. 2313 100 138

Dosen Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng

ABSTRAK

Terjadinya krisis energi menyebabkan meningkatnya penggunaan sumber energi alternatif sebagai pengganti sumber energi fosil yang tidak dapat diperbaharui. Salah satunya pembuatan biodiesel sebagai pengganti solar. Mikroalga merupakan sumber energi terbarukan yang layak untuk dikembangkan. *Botryococcus braunii* merupakan jenis mikroalga yang saat ini banyak diujikan karena kandungan lipidnya yang cukup tinggi. Penambahan kadar CO₂ dan siklus pencahayaan dilakukan untuk melihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan produktivitas lipid mikroalga.

Tahap pertama adalah mengembangbiakkan mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan termutasi UV-B selama 3 hari dengan pemberian nutrient setiap 12 jam. Tahap selanjutnya adalah penambahan CO₂ dengan *flowrate* 15 mL/menit disertai siklus pencahayaan dengan variabel (terang : gelap) 12 jam : 12 jam, 16 jam : 8 jam, dan 24 jam : 0 jam. Pertumbuhan mikroalga dihitung dengan menggunakan hemasitometer dan pengecekan *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 680 nm setiap 24 jam. Untuk mendapatkan lipid digunakan ekstraksi menggunakan n-heksana.

Kata kunci : *Botryococcus braunii*, CO₂, mikroalga, mutasi, UV-B

THE EFFECT OF LIGHT CYCLE ON THE GROWTH AND LIPID PRODUCTIVITY OF MICROALGAE *Botryococcus braunii* UV-B RAYS MUTATED AND NATURAL

Name / NRP :

1. Cecilia NRP. 2313 100 070

2. Wahyu Dwi Kristian NRP. 2313 100 138

Advisor : Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.eng

ABSTRACT

Energy crisis leads to the use of alternative energy sources as replacement for non-renewable energy sources. One of them is biodiesel manufacture as a substitution of diesel fuel. Microalgae are a viable source of renewable energy to be developed.

Botryococcus braunii is a microalgae that currently being tested for its ability as diesel fuel source because of its high lipid content. Enhanced of CO₂ and light cycle were done to check the effect on microalgae growth rate and lipid productivity.

First stage is to breed natural and mutant microalgae *Botryococcus braunii* cultivation for 3 days with nutrient adding once every 12 hours. The next stage is CO₂ addition with *flowrate* 15 mL/min and light cycle ratio (light : dark) varied to 3 variables = 12 hours : 12 hours, 16 hours : 8 hours, and 24 hours : 0 hours. Microalgae growth is calculated with haemocytometer and monitored by measuring the *Optical Density* (OD) at 680 nm wavelength every 24 hours. Extraction of lipid using n-hexane to obtain the lipid.

Key words : *Botryococcus braunii*, CO₂, microalgae, mutation, UV-B

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kami ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan Skripsi berjudul **PENGARUH SIKLUS PENCAHAYAAN TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PRODUKTIVITAS LIPID MIKROALGA *Botryococcus braunii* TERMUTASI UV-B DAN ALAMI**. Dalam kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Juwari, S.T., M. Eng., Ph.D, selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTI-ITS.
2. Bapak Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D, selaku Sekretaris Departemen Teknik Kimia FTI-ITS.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M. Eng, selaku Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia Departemen Teknik Kimia FTI ITS dan selaku dosen pembimbing.
4. Ibu Dr. Lailatul Qadariyah, S.T., M.T. selaku Koordinator Program Studi S1 Departemen Teknik Kimia FTI-ITS.
5. Bapak Gunawan selaku Laboran Laboratorium Teknologi Biokimia.
6. Seluruh dosen, staf, dan karyawan Teknik Kimia FTI-ITS.
7. Orang tua dan keluarga yang selalu mendukung kami.
8. Keluarga besar Laboratorium Teknologi Biokimia, atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya.
9. Teman – teman K 53 Teknik Kimia ITS yang selalu memberikan ilmu serta pengetahuan kepada penulis

Surabaya, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
LEMBAR PENGESAHAN	
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	ix
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang	I-1
I.2 Rumusan Masalah	I-4
I.3 Tujuan Penelitian	I-4
I.4 Manfaat Penelitian	I-4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Mikroalga dan Potensinya sebagai Bahan Baku Biodiesel	II-1
II.2 Mikroalga <i>Botryococcus braunii</i>	II-1
II.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga	II-4
II.4 Mutasi Genetika	II-6
II.5 Sinar Ultraviolet	II-7
II.6 Cara Mengukur Pertumbuhan Mikroalga	II-8
II.6.1 Metode <i>Counting Chamber</i>	II-8
II.6.2 Metode Turbidimetri	II-9
II.7 Ekstraksi Lipid	II-13
II.8 Analisa <i>Gas Chromatography</i> (GC)	II-14
II.9 Penelitian Sebelumnya	II-15
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
III.1 Variabel Penelitian	III-1
III.1.1 Kondisi Operasi	III-1
III.1.2 Variabel Penelitian	III-1
III.2 Waktu dan Tempat Penelitian	III-1
III.3 Bahan dan Alat Penelitian	III-2

III.3.1 Bahan Penelitian	III-2
III.3.2 Alat Penelitian.....	III-2
III.4 Kondisi Operasi Penelitian	III-3
III.5 Analisa Penelitian	III-4
III.6 Data yang Dihasilkan.....	III-5
III.7 Gambar Alat Kultur	III-5
III.8 Tahapan Metode Penelitian.....	III-6
III.8.1 Sterilisasi Bahan dan Alat	III-6
III.8.2 Pre Kultur Mikroalga <i>Botryococcus</i> <i>braunii</i>	III-6
III.8.3 Proses Mutasi Mikroalga dengan Sinar UV-B.....	III-7
III.8.4 Penambahan CO ₂ dan Siklus Pencahayaannya.....	III-8
III.8.5 Pengukuran Intensitas Cahaya.....	III-9
III.8.6 Analisa Salinitas Air Laut	III-9
III.8.7 Analisa Jumlah Sel Mikroorganisme dengan Metode <i>Counting Chamber</i>	III-10
III.8.8 Ekstraksi Lipid	III-11
III.8.9 Analisa GC (<i>Gas Chromatography</i>).....	III-12
III.9 Diagram Alir Penelitian	III-13
III.9.1 Pre Kultur Mikroalga <i>Botryococcus</i> <i>braunii</i>	III-13
III.9.2 Mutasi Mikroalga dengan Sinar UV-B...	III-13
III.9.3 Penambahan CO ₂ dan Siklus Pencahayaannya.....	III-14
III.9.4 Pengukuran Intensitas Cahaya.....	III-15
III.9.5 Pengukuran Salinitas	III-15
III.9.6 Ekstraksi Lipid	III-16
III.9.7 Analisa GC	III-16

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Mutasi <i>B.braunii</i> Alami Menggunakan Lampu UV-B.....	IV-1
IV.2 Pre-Kultur <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B.....	IV-2

IV.3 Penambahan Karbon Dioksida (CO ₂) dan Pengaruh Siklus Pencahayaan	IV-4
IV.3.1 Pertumbuhan Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B setelah Penambahan CO ₂ pada Berbagai Siklus Pencahayaan	IV-4
IV.3.2 Perubahan pH selama 10 Hari Kultur..	IV-10
IV.3.3 Produktivitas Biomassa dan Lipid Variabel Siklus Pencahayaan.....	IV-11
IV.4 Analisa GC (<i>Gas Chromatography</i>).....	IV-18
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan	V-1
V.2 Saran	V-1
DAFTAR PUSTAKA	x
DAFTAR NOTASI	xiii
APPENDIKS.....	A-1

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	<i>Botryococcus braunii</i>	II-2
Gambar II.2	Properti Fisika-Kimia Lipid <i>B.braunii</i>	II-3
Gambar II.3	Kandungan Asam Lemak Berbagai Jenis Mikroalga	II-3
Gambar II.4	Perhitungan Jumlah Sel dengan Hemasitometer	II-9
Gambar II.5	Spektrofotometer	II-10
Gambar II.6	Spektrum Radiasi <i>Visible</i> (Cahaya Tampak)	II-11
Gambar II.7	Hubungan Warna Larutan dengan Warna Komplementer	II-12
Gambar II.8	Spektrum Elektromagnetik	II-12
Gambar II.9	Komponen Dasar Sistem GC Modern	II-14
Gambar III.1	Rangkaian Alat Kultur Mikroalga	III-5
Gambar III.2	Desain Alat Kultur Tampak Atas	III-5
Gambar III.3	Instalasi Alat Mutasi UV-B	III-7
Gambar III.4	Desain Alat untuk Penambahan CO ₂	III-8
Gambar III.5	Alat <i>Lux Meter</i>	III-9
Gambar III.6	<i>Hand Refractometer</i>	III-9
Gambar III.7	Penentuan Titik Hitung pada Hemasitometer	III-10
Gambar III.8	Rangkaian Alat Ekstraksi <i>Soxhlet</i>	III-11
Gambar III.9	Rangkaian Alat Distilasi	III-12
Gambar IV.1	Kurva Pertumbuhan <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B selama 3 Hari	IV-3
Gambar IV.2	Grafik Pertumbuhan Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Mutan UV-B	IV-8
Gambar IV.3	Grafik <i>Optical Density</i> <i>B.braunii</i> Alami dan Mutan UV-B	IV-9
Gambar IV.4	Produktivitas Biomassa dan Lipid <i>B.braunii</i> Alami dan Mutan UV-B Variabel Siklus Pencahayaan dan Variabel CO ₂	IV-17

Gambar IV.5 Hasil GC Lipid Mikroalga Alami Variabel
24 : 0.....IV-18

Gambar IV.6 Hasil GC Lipid Mikroalga Mutan Variabel
16 : 8.....IV-19

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Kandungan Lipid Berbagai Jenis Mikroalga.....	II-2
Tabel IV.1	Jumlah Sel <i>B.braunii</i> Sebelum dan Sesudah Mutasi Menggunakan Sinar UV-B.....	IV-1
Tabel IV.2	Jumlah Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B selama 3 Hari Kultur	IV-3
Tabel IV.3	Jumlah Sel dan <i>Optical Density B.braunii</i> Alami setelah Kultur 10 Hari dengan Penambahan Gas CO ₂ Variabel Siklus Pencahayaan.....	IV-5
Tabel IV.4	Jumlah Sel dan <i>Optical Density B.braunii</i> Mutan UV-B setelah Kultur 10 Hari dengan Penambahan Gas CO ₂ Variabel Siklus Pencahayaan.....	IV-7
Tabel IV.5	Perubahan pH Kultur Selama 10 Hari.....	IV-10
Tabel IV.6	Perhitungan Massa Sel per Jumlah Sel Mikroalga Variabel Siklus Pencahayaan.....	IV-12
Tabel IV.7	Perhitungan Produktivitas Biomassa dan Lipid Variabel Siklus Pencahayaan.....	IV-16
Tabel IV.8	Komposisi Senyawa Lipid Mikroalga Alami Variabel 24 : 0.....	IV-18
Tabel IV.9	Komposisi Senyawa Lipid Mikroalga Mutan Variabel 16 : 8.....	IV-19

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Energi merupakan salah satu komponen vital dalam kehidupan manusia. Krisis energi yang sedang melanda saat ini merupakan masalah yang harus segera ditanggulangi. Peningkatan populasi penduduk menyebabkan eksploitasi secara terus-menerus terhadap bahan bakar fosil yang merupakan energi yang tidak dapat diperbaharui sehingga mengakibatkan keberadaannya di alam semakin menipis. Pembakaran bahan bakar fosil secara terus-menerus menyebabkan polusi CO₂ di udara sehingga dapat menimbulkan efek rumah kaca, *global warming*, dan perubahan iklim (Sharma, 2012).

Pengembangan energi alternatif yang dapat diperbaharui (*renewable*) dan ramah lingkungan merupakan jawaban untuk mengatasi krisis energi tersebut. Beberapa jenis *biofuel* mulai ditawarkan dan biodiesel diperhitungkan sebagai salah satu sumber energi alternatif yang menjanjikan. Biodiesel merupakan bahan bakar dari minyak nabati. Dengan sumber daya alam nabati yang sangat melimpah dan dengan kemajuan teknologi seperti saat ini, bahan pangan tersebut dapat dimanfaatkan untuk diubah menjadi energi alternatif. (Ashokkumar, 2014).

Kebutuhan biodiesel sebagai energi alternatif ini otomatis akan membutuhkan bahan baku yang besar pula. Kriteria yang dibutuhkan sebagai bahan baku yaitu mudah tumbuh, mudah dikembangkan, dan mengandung minyak nabati yang cukup besar. Keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan minyak yang dapat dijadikan sebagai bahan biodiesel. Indonesia merupakan negara kepulauan yang dua pertiga wilayahnya adalah lautan. Di dalam lautan terdapat bermacam-macam makhluk hidup baik berupa tumbuhan air maupun hewan air. Salah satu makhluk hidup yang tumbuh dan berkembang di laut adalah mikroalga.

Mikroalga merupakan bahan baku penghasil biodiesel yang cukup potensial namun sejauh ini pemanfaatan mikroalga sebagai bahan baku industri biodiesel masih relatif kecil dibanding industri biodiesel dari tanaman dan minyak hewani (Chisti, 2007). Padahal mikroalga memiliki beberapa keuntungan antara lain : (1) Memiliki struktur sel yang sederhana dan kemampuan untuk mengendalikan sel tanpa mengurangi produktivitasnya, (2) Kemampuan berfotosintesis sangat tinggi, sekitar 3-8% sinar matahari mampu dikonversikan menjadi energi dibanding tanaman tingkat tinggi lainnya yang hanya sekitar 0,5%, (3) Memiliki siklus hidup yang pendek (\pm 1-10 hari), (4) Kemampuan untuk mensintesis lemak sangat tinggi (\pm 40-86% berat kering biomassa), (5) Kemampuan bertahan pada kondisi lingkungan yang ekstrim (salinitas tinggi atau lingkungan yang tercemar) (Verma, 2009). Budidaya mikroalga dalam skala besar 10-20 kali lebih produktif dibanding budidaya tanaman karena pada budidaya mikroalga tidak memerlukan air yang banyak dan dapat menghasilkan jumlah lipid yang lebih besar (Widjaja, 2009).

Mutasi sering dilakukan untuk memperbaiki sifat alami mikroorganisme. Beberapa studi juga telah dilakukan untuk mengetahui efek mutasi terhadap mikroalga. Pada penelitian Delita Zul (2013), mikroalga yang diradiasi dengan sinar UV-B pada dosis yang tepat akan menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi dibanding yang alami. Hal ini terjadi karena radiasi sinar UV menyebabkan perubahan susunan gen sehingga dihasilkan gen mutan yang dapat menyebabkan peningkatan-peningkatan tertentu pada mikroorganisme. Pada penelitian lainnya, dikatakan bahwa radiasi UV-B dapat meningkatkan pertumbuhan sel dan metabolisme, meningkatkan total lipid dan konsentrasi asam lemak bebas (*free fatty acid*) bergantung pada seberapa banyak dosis radiasi yang diberikan (Skerratt, J.H., 1997). Menurut Sharma (2012), dengan kondisi pertumbuhan yang optimal, jumlah biomassa yang dihasilkan besar namun kandungannya relatif kecil sehingga untuk mendapatkan kandungan lipid yang

tinggi, mikroalga dikondisikan dalam keadaan stress, salah satunya dengan radiasi sinar UV-B. Teori ini telah diuji melalui percobaan oleh Dinny dan Helmi (2016) dimana kandungan lipid pada mikroalga mutan UV-B 1,5 menit 2 kali lipat lebih banyak dibanding mikroalga alami.

Mikroalga merupakan mikroorganisme fotosintetik yang mampu menggunakan energi matahari untuk menggabungkan air dengan CO₂ untuk membuat suatu biomassa. Telah banyak dilakukan studi mengenai pemanfaatan gas CO₂ terhadap pertumbuhan serta lipid dari mikroalga. Mikroalga jenis *Chlorella vulgaris* disebutkan dalam kondisi nutrisi normal produktivitas lipid meningkat seiring dengan meningkatnya kadar CO₂ yang diberikan (Widjaja, 2009). Menurut Ge Yaming (2011), penambahan gas CO₂ berkisar 2-20% tidak menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan mikroalga sehingga rentang tersebut merupakan rentang yang optimal untuk pertumbuhan mikroalga. Intensitas cahaya dan siklus pencahayaan juga menjadi faktor yang menentukan pertumbuhan mikroalga. Semakin besar intensitas cahaya dan semakin lama siklus pencahayaan menyebabkan meningkatnya konsentrasi biomassa dan ukuran koloni mikroalga *Botryococcus braunii* (Kojima, 1998).

Berbagai studi telah dilakukan untuk meneliti efek dari penambahan CO₂ serta siklus pencahayaan terhadap pertumbuhan dan produktivitas lipid mikroalga, akan tetapi belum ada hasil mengenai pengaruh dari penambahan kadar CO₂ dan siklus pencahayaan terhadap peningkatan produksi lipid pada mikroalga termutasi UV-B guna menjadikannya bahan baku untuk pembuatan biodiesel, sehingga hal tersebut yang menjadi latar belakang dari penelitian kami yang berjudul :

Pengaruh Siklus Pencahayaan terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B dan Alami

I.2 Rumusan Masalah

1. Adanya permasalahan krisis energi akibat terbatasnya ketersediaan bahan bakar fosil sehingga perlu adanya energi alternatif pengganti bahan bakar fosil yang dapat diperbaharui.
2. Mikroalga penghasil lipid banyak ditemukan seperti *Botryococcus braunii* namun pemanfaatnya sebagai biodiesel belum maksimal.
3. Belum ada laporan mengenai pengaruh siklus pencahayaan terhadap *Botryococcus braunii* termutasi UV-B.

I.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui potensi mikroalga *Botryococcus branuii* sebagai bahan baku energi alternatif.
2. Mengetahui pengaruh penambahan siklus pencahayaan terhadap pertumbuhan dan produktivitas mikroalga *Botryococcus brauni*termutasi UV-B.

I.4 Manfaat Penelitian

1. Mengetahui pengaruh siklus pencahayaan terhadap pertumbuhan dan produktivitas mikroalga *Botryococcus brauni*termutasi UV-B.
2. Dapat mengetahui kondisi optimum untuk mendapatkan produktivitas serta kandungan lipid yang tinggi dari mikroalga *Botryococcus braunii* untuk pembuatan biodiesel.
3. Dapat memberikan kontribusi dalam memecahkan masalah krisis energi melalui salah satu alternatif energi terbarukan dari mikroalga.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

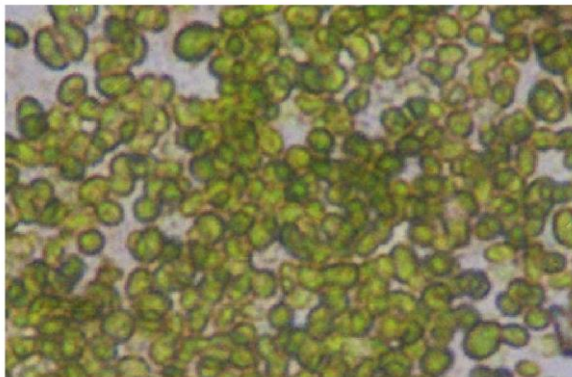
II.1 Mikroalga dan Potensinya sebagai Bahan Baku Biodiesel

Mikroalga merupakan organisme mikroskopik, uniseluler dan fototropik yang dibagi dalam 3 kategori yaitu Diatoms (*Bacillariophyceae*), *Green algae (Chlorophyceae)* dan *Golden algae (Chrysophyceae)*. Diatoms merupakan bentuk kehidupan dominan yang ada dalam fitoplankton dan mewakili kumpulan terbesar penghasil biomassa di bumi. Alga hijau (*green algae*) banyak ditemukan di air tawar daripada di air laut. *Golden algae* mirip dengan diatoms dan menghasilkan minyak dan karbohidrat (Bharathiraja et al., 2015).

Mikroalga merupakan bahan baku yang menjanjikan untuk produksi biofuel. Berbagai macam biofuel dapat diproduksi berdasarkan komposisi kimia yang dikandung oleh biomassa alga. Biofuel dapat berupa biodiesel, bioethanol, biobutanol, biomethane, biohidrogen, dan produk konversi thermo kimia seperti bio-oil, biocrude, dan juga sintetik gas (Kumar, 2015). Kandungan mikroalga yang memiliki potensi untuk menghasilkan biofuel, khususnya biodiesel adalah lipid. Mikroalga memiliki kandungan lipid 20-50% bahkan sampai 80%, sehingga mikroalga menjadi sumber potensial untuk biodiesel (Chisti, 2007).

II.2 Mikroalga *Botryococcus braunii*

Salah satu spesies mikroalga yang cukup banyak dikenal sebagai bahan biodiesel adalah *Botryococcus braunii*. *B. braunii* merupakan tanaman sel tunggal berwarna hijau (termasuk dalam kategori green algae), banyak dijumpai di perairan danau, tambak ataupun perairan payau sampai laut (Amini, 2010).



Gambar II.1 *Botryococcus braunii* (Dayananda et al., 2007)

Kandungan klorofil (zat hijau daun) *B. braunii* mencapai 1,5-2,8 %, terdiri dari klorofil a, b, dan c, sehingga di permukaan perairan tampak berwarna hijau-coklat kekuningan. *B. braunii* memiliki inti sel dengan ukuran sekitar 15-20 μm dan berkoloni, bersifat non motil dan setiap pergerakannya sangat dipengaruhi oleh arus perairan (Amini, 2010). *B. braunii* memiliki ukuran sel dengan panjang antara 8-13 μm dan lebar antara 5-9 μm . Diantara berbagai macam spesies mikroalga dan makroalga, *B. braunii* telah dikenal sebagai spesies yang paling menjanjikan untuk produksi biofuel, karena memiliki kemampuan produksi lipid yang sangat baik (Tasic, 2016).

Tabel II.1 Kandungan Lipid Berbagai Jenis Mikroalga

Jenis Mikroalga	Kandungan Lipid (% berat kering)
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlorella</i> sp.	28–32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16–37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris</i> sp.	20–35

<i>Nannochloropsis</i> sp.	31–68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–54
<i>Nitzschia</i> sp.	45–47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20–30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50–77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15–23

(Chisty, 2007)

Properties	Values
Hydrocarbon content	22.6 wt.%
Total lipid content	51.5 wt.%
Saponification value	184
Free fatty acids	9.7 wt.%
Ester value	163
Iodine value	92
Carotenes and pigments	8.2 wt.%
Ash content	0.0001 wt.%
Moisture (wt.%)	0.019
Average molecular weight of total Lipid fraction	920 g mol ⁻¹

Gambar II.2 Properti Fisika-Kimia Lipid *B.braunii*

(Ashokkumar, 2014)

Jenis asam lemak	Kandungan asam lemak (%)						
	<i>Chlorella</i> sp	<i>Dunaliella</i> sp	<i>Nannochloropsis</i>	<i>Porphyridium</i>	<i>Spirulina</i> sp	<i>Tetraselmis</i>	<i>B.braunii</i>
As. miristat (C14:0)	6,71	8,12	87,35	6,90	11,64	5,37	3,04
As. palmitat (C16:0)	5,95	6,43	20,05	6,04	10,34	6,82	14,11
As. stearat (C18:0)	4,25	8,21	16,68	7,82	8,74	2,17	9,06
As. oleat (C18:1)	24,27	64,20	101,50	26,64	32,76	24,21	14,04
As. linoleat (C18:2)	5,58	32,48	49,02	10,76	21,27	21,07	0,27

Gambar II.3 Kandungan Asam Lemak Berbagai Jenis Mikroalga

(Amini, 2010)

Lipid mikroalga memiliki kandungan asam lemak bebas (FFA) yang cukup tinggi. Jenis *fatty acid* yang terdapat pada lipid *Botryococcus* didominasi oleh asam oleat dan palmitat. Melalui proses esterifikasi dan transesterifikasi, lipid mikroalga dapat diubah menjadi biodiesel. Berdasarkan penelitian Ashokkumar (2014), kandungan FFA sebesar 9,7 % pada awalnya, dapat

diturunkan menjadi 0,55 % melalui proses esterifikasi dengan katalis asam, dan dihasilkan metil ester sebesar 38%.

Studi menunjukkan bahwa mikroalga yang disuplai dengan 0,04 % CO₂ akan menghasilkan persentase asam palmitat (C 16 : 0) paling tinggi. Sedangkan mikroalga yang disuplai dengan 10 % CO₂ akan menghasilkan asam palmit-oleat (C 16 : 1) lebih tinggi. Lipid mikroalga dengan kandungan asam lemak C16 – 18 yang tinggi ternyata bagus untuk digunakan sebagai bahan baku produksi biodiesel.

(Ruangsomboon, et al., 2017)

II.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga

Produktivitas optimal lipid dan biomassa dari mikroalga dalam media alami maupun sintesis dapat diperoleh dengan mengontrol beberapa parameter seperti suhu, pH, cahaya dan pencampuran (Tasic, 2016).

1. Suhu

Suhu dalam media kultur akan mempengaruhi pertumbuhan mikroalga dan produktivitas lipidnya. Mikroalga *B. braunii* memiliki suhu optimal pertumbuhan pada 25-30 °C, dan suhu maksimum pertumbuhan pada 32 °C (Ruangsomboon, 2012). Temperatur menjadi parameter pertumbuhan mikroalga yang cukup penting karena didasarkan pada tempat tumbuhnya, baik dalam iklim tropis maupun sub tropis. Sebagian besar alga dapat tumbuh pada suhu antara 15 sampai 40 C. Beberapa mikroalga dapat tumbuh subur pada kondisi suhu kisaran 24-26 C. Pada suhu di bawah 16 C, mikroalga masih dapat tumbuh dalam keadaan lambat. Namun pada suhu di atas 35 C, beberapa mikroalga dapat mati atau lysis (pecah). Studi tentang pengaruh temperatur dan *growth rate* mikroalga telah dilakukan oleh Goldman dan Carpenter (1974), dan

dilaporkan bahwa kenaikan temperatur pada range tertentu dapat menaikkan *growth rate* mikroalga.

2. pH

Sebagian besar alga tumbuh pada kondisi pH normal antara 6 sampai 8. Akan tetapi beberapa alga jenis *cyanobacteria* seperti *Spirulina platensis* hanya dapat tumbuh pada kondisi alkali/basa. Sementara *Chlorella* secara umum dapat hidup dalam kondisi pH antara 7-8.

3. Cahaya

Cahaya merupakan bagian penting yang harus tersedia karena cahaya digunakan mikroalga untuk melakukan proses fotosintesis. Cahaya sebagai sumber energi dapat diperoleh langsung dari sinar matahari ataupun menggunakan sinar lampu. Jenis lampu yang bisa digunakan adalah *white florescent light* dengan intensitas sebesar $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Yaming Ge et al., 2011).

Intensitas cahaya sering disebutkan dalam satuan microEinsteins/m² s atau setara dengan satu mol photons. Beberapa satuan lain seperti micromol/ m² s, Lux dan W/m² juga digunakan. Jeon et al (2005) melaporkan bahwa aktivitas fotosintesis naik seiring kenaikan intensitas cahaya. Hal ini menjadi penting apabila mikroalga dibiakkan dalam kedalaman tertentu, semakin dalam medium mikroalga, intensitas cahaya yang dibutuhkan juga semakin tinggi. Choochote et al, (2010) melaporkan bahwa *Chlorella sp* dapat tumbuh dalam keadaan maksimum pada kondisi intensitas cahaya 5000 lux. Sebagian besar mikroalga tidak dapat tumbuh dengan baik dalam keadaan pencahayaan yang konstan, karena membutuhkan waktu istirahat untuk menyimpan makanan. Terkadang dilakukan manipulasi durasi pencahayaan *light-dark* (L/D) antara lain 16:8, 14:10 atau 12:12 waktu pencahayaan (Hadiyanto,2012).

4. CO₂

CO₂ juga digunakan oleh mikroalga dalam proses fotosintesis. Konsentrasi CO₂ yang terkandung dalam udara aerasi hanya sebesar 0,03% sehingga konsentrasi CO₂ pada kultur perlu ditambah dengan CO₂ murni (Chiu, 2009).

5. Aerasi

Aerasi dibutuhkan untuk mencegah terjadinya sedimentasi pada sistem kultivasi mikroalga, selain itu juga berfungsi untuk memastikan agar semua sel mikroalga mendapat cahaya dan nutrisi yang sama (distribusi cahaya dan nutrisi merata dalam sistem kultivasi). Aerasi juga berguna sebagai pengadukan dalam sistem kultivasi untuk mencegah pengendapan sel-sel.

6. Salinitas

Salinitas merupakan faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan komponen biokimia mikroalga. Mikroalga *B. braunii* dapat tumbuh pada kisaran 0-25 ppt dan tumbuh subur pada 10 ppt. Dalam penelitian lebih lanjut dikemukakan bahwa kelimpahan dan laju pertumbuhan *B. braunii* tertinggi terjadi pada salinitas 5 ppt yaitu dengan kelimpahan 6,9 log sel/mL dan laju pertumbuhan 1,9/hari (Amini, 2010).

II.4 Mutasi Genetika

Organisme industrial terakhir ini secara genetika sudah diprogramkan untuk melakukan suatu fungsi metabolisme dalam kadar dan perlakuan yang berbeda dengan organisme semula. Pengembangan organisme yang layak bagi industri dari jenis alami, akan membutuhkan perubahan dalam informasi genetiknya yang dapat menghilangkan berbagai sifat yang tidak dikehendaki atau bahkan mengenalkan sifat yang baru sama sekali. Perbaikan produktivitas melalui mutagenesis dengan cara induksi mutagen atau titer sudah sejak lama digunakan (Smith, 1992). Untuk mendapatkan mutan yang tahan terhadap asam maka seleksi

mutan dilakukan dengan menumbuhkannya pada media asam yaitu 4,5.

Mutasi dapat terbentuk dari pengaruh fisik dan kimia, tetapi juga oleh kesalahan yang kebetulan terjadi pada replikasi atau rekombinasi DNA. Diantara mutagen fisik yang perlu disebutkan adalah penyinaran ionisasi. Molekul-molekul tersebut mampu bereaksi secara ekstrim dan dapat merusak DNA. Juga sinar UV, gelombang pendek punya pengaruh mutagenik yang menyerang sel kulit. Perubahan kimia yang paling sering akibat UV adalah pembentukan dimer timin. Dua basa timin yang berdampingan saling berikatan secara kovalen membentuk anyaman seperti jala. Hal ini menyebabkan kesalahan dalam pembacaan DNA pada replikasi dan transkripsi. Teknik mutasi tidak begitu sulit. Sel-sel yang akan dimutasi dilarutkan pada larutan yang mengandung mutagen atau dipaparkan pada radiasi selama beberapa menit, kemudian dibersihkan.

II.5 Sinar Ultraviolet

Sinar ultra violet (UV) diketahui merupakan salah satu sinar dengan daya radiasi yang dapat bersifat letal bagi mikroorganisme. Sinar UV mempunyai panjang gelombang mulai 4 nm hingga 400 nm dengan efisiensi tertinggi untuk pengendalian mikroorganisme adalah pada 365 nm. Karena mempunyai efek letal terhadap sel-sel mikroorganisme, maka radiasi UV sering digunakan di tempat-tempat yang menuntut kondisi aseptik seperti laboratorium, ruang operasi rumah sakit dan ruang produksi industri makanan dan minuman, serta farmasi. Salah satu sifat sinar ultra violet adalah daya penetrasi yang sangat rendah. Selapis kaca tipis pun sudah mampu menahan sebagian besar sinar UV. Oleh karena itu, sinar UV hanya dapat efektif untuk mengendalikan mikroorganisme pada permukaan yang terpapar langsung oleh sinar UV, atau mikroba berada di dekat permukaan medium yang transparan. Absorpsi maksimal sinar UV di dalam sel terjadi pada asam nukleat, maka diperkirakan mekanisme utama kerusakan sel oleh sinar UV pada

ribosom, sehingga mengakibatkan terjadinya mutasi atau kematian sel.

(www.litbang.depkes.go.id, 2006)

Jenis-jenis gelombang ultraviolet yaitu :

- UV-A

Panjang gelombang dari Ultraviolet ini 315 - 400 nm. Namun pada kisaran 380-400 nm, sinar ini tampak oleh mata, sebab pada kisaran tersebut, masih disebut cahaya ungu (violet). Dari semua jenis Ultraviolet, UV-A memiliki energi paling kecil namun memiliki panjang gelombang terpanjang.

- UV-B

Panjang gelombang dari gelombang ini antara 280-315 nm. Kemampuan membunuh mikroorganisme sudah dapat dilakukan pada UV jenis ini. Namun tidak sempurna, artinya mikroorganisme masih dapat berkembang biak walaupun terjadi cacat pada bagian tubuhnya. Kemampuan UV-B ini hanya sampai merusak dinding sel mikroorganisme.

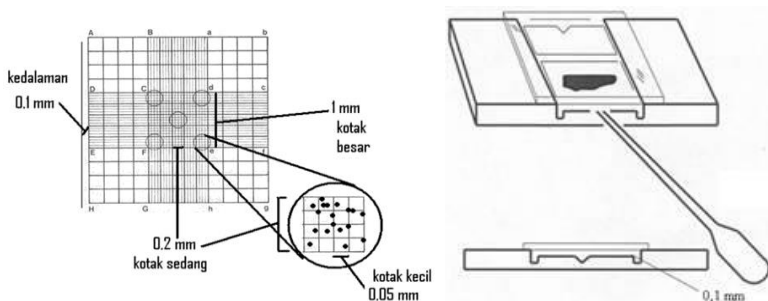
- UV-C

Memiliki panjang gelombang antara 100-280 nm. Bersifat *germidical*. Namun, atmosfer bumi tidak dapat ditembus oleh UV jenis ini. Hal ini dikarenakan foton pada UV-C akan berinteraksi dengan Oksigen (O₂).

II.6 Cara Mengukur Pertumbuhan Mikroalga

II.6.1 Metode *Counting Chamber*

Salah satu cara menentukan konsentrasi sel suatu mikroorganisme adalah dengan menggunakan metode *counting chamber*. Metode ini menggunakan alat hemasitometer dan mikroskop. Hemasitometer merupakan alat yang dapat digunakan untuk menentukan jumlah sel dalam milimeter kubik (mm³) dimana sel yang akan diukur harus diencerkan terlebih dahulu. Penentuan jumlah sel menggunakan alat ini dilakukan dengan meletakkan hemasitometer pada meja obyek mikroskop dan dengan menggunakan perbesaran obyektif, dapat dihitung jumlah sel yang ada (Benson, 2001).



Gambar II.4 Perhitungan Jumlah Sel dengan Hemasitometer

Langkah awal dalam metode ini adalah dengan membuat seri pengenceran sampel yang selanjutnya jumlah koloni sampel diamati menggunakan mikroskop. Dalam melakukan penghitungan ini, mula-mula hemasitometer dibersihkan dengan *aquadest* agar pengamatan dapat dilakukan dengan jelas. Kemudian meneteskan setetes suspensi sampel pada hemasitometer, lalu ditutup dengan *deck glass*. Setelah itu meletakkan hemasitometer pada meja obyek mikroskop dan dilakukan pengamatan dengan perbesaran obyektif 100x. Posisi hemasitometer dan pencahayaan mikroskop diatur hingga terlihat garis-garis dan kotak-kotak hemasitometer. Kemudian menentukan 5 kotak untuk menghitung jumlah sel pada kotak-kotak tersebut. Jumlah mikroorganisme dalam sampel ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni yang teramati dengan faktor pengenceran.

II.6.2 Metode Turbidimetri

Dalam metode turbidimetri, suspensi sel akan terlihat keruh bila dilihat dengan mata karena sel-sel menghamburkan atau memancarkan cahaya melalui suspensi. Turbiditas atau kekeruhan dapat digunakan untuk mengukur jumlah sel dan juga untuk mengamati peningkatan jumlah sel dalam pertumbuhannya.

Pengukuran dengan metode turbidimetri berdasarkan prinsip bahwa partikel seperti mikroorganisme pada suatu larutan memancarkan sinar ketika seberkas cahaya ditransmisikan

melalui larutan tersebut. Di mana cahaya tersebut akan diserap oleh mikroorganisme yang berada dalam sampel, hal ini disebut dengan absorbansi. Sedangkan untuk %T (persen transmittan) adalah persen fraksi cahaya masuk yang diteruskan oleh sampel. Dari nilai %T yang diperoleh dapat dihitung besarnya *Optical Density* (OD) dengan menggunakan persamaan:

$$OD = 2 - \text{Log } \%T$$

Optical density (OD) adalah jumlah cahaya yang dihamburkan dan diserap oleh sel dalam suatu larutan. Semakin banyak mikroorganisme dalam suatu larutan maka nilai dari persen transmittan (%T) juga akan semakin besar karena kekeruhan dari larutan juga akan semakin tinggi (Underwood, 2002).

Turbiditas diukur dengan spektrofotometer, suatu alat yang melewatkan cahaya melalui suspensi sel (Madigan, 2012). Spektrofotometer merupakan alat yang berfungsi untuk mengukur spektrum UV komponen kimia bioaktif yang memberikan serapan UV pada panjang gelombang 200-800 nm. Alat ini juga dapat digunakan untuk analisis kuantitatif yang berdasar pada penyerapan sinar UV dan daerah tampak (LIPI Botani, 2015).



Gambar II.5 Spektrofotometer

Teknik spektrometer yang paling banyak digunakan dalam laboratorium adalah spektrometer pada rentang ultraviolet-visible, yang biasa dikenal dengan spektrofotometer UV-Vis.

Radiasi elektromagnetik pada spektrofotometer UV-Vis dibagi dalam rentang panjang gelombang 200-700 nm. Untuk rentang panjang gelombang UV yaitu pada 200 - 350 nm, sedangkan untuk panjang gelombang *visible* yaitu pada rentang 350 – 700 nm. Rentang UV ini tidak berwarna jika dilihat dengan kasat mata, berbeda dengan rentang panjang gelombang *visible* yang memiliki karakteristik warna tertentu, dari violet pada panjang gelombang yang pendek dan warna merah pada panjang gelombang yang panjang.

<i>Wavelength (nm)</i>	<i>Color</i>	<i>Complementary Hue</i>
<380	Ultraviolet	
380–420	Violet	Yellow-green
420–440	Violet-blue	Yellow
440–470	Blue	Orange
470–500	Blue-green	Red
500–520	Green	Purple
520–550	Yellow-green	Violet
550–580	Yellow	Violet-blue
580–620	Orange	Blue
620–680	Red	Blue-green
680–780	Purple	Green
>780	Near-infrared	

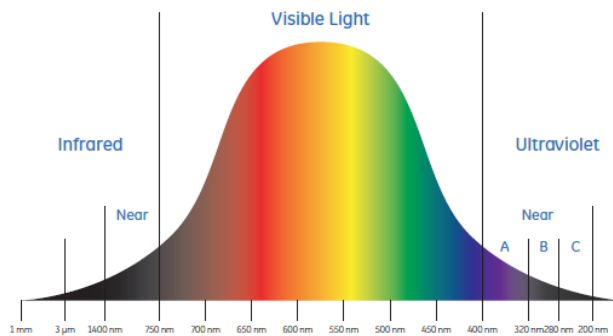
Gambar II.6 Spektrum Radiasi *Visible* (Cahaya Tampak)
(Nielsen, S.S., 2010)

Pada spektrofotometer UV-Vis, warna yang diserap oleh suatu senyawa atau unsur adalah warna komplementer dari warna yang teramati. Hal tersebut dapat diketahui dari larutan berwarna yang memiliki serapan maksimum pada warna komplementernya.



Gambar II.7 Hubungan Warna Larutan dengan Warna Komplementer

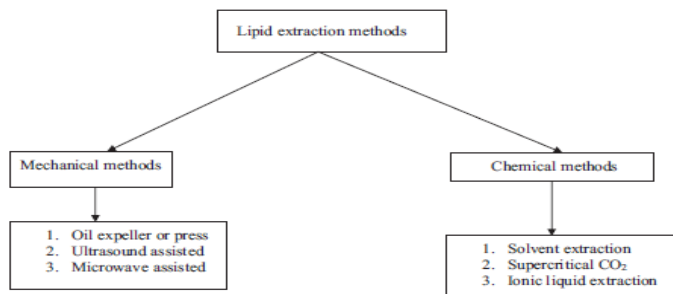
Selain cahaya ultraviolet dan cahaya tampak (*visible*), salah satu rentang spektrum elektromagnetik dalam teknik spektrometri yaitu pada panjang gelombang diatas 750 nm yang disebut dengan cahaya inframerah. (GE Healthcare Life Sciences, 2013). Spektrometri inframerah mengarah pada pengukuran absorpsi frekuensi berbeda dari radiasi inframerah oleh makanan atau solid lain, liquid atau gas. (Nielsen, S.S., 2010)



Gambar II.8 Spektrum Elektromagnetik
(GE Healthcare Life Sciences, 2013)

II.7 Ekstraksi Lipid

Metode ekstraksi lipid bisa dilakukan dengan beberapa cara seperti gambar berikut :



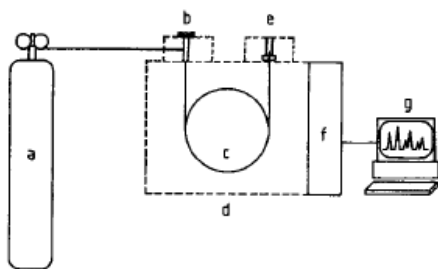
(Mubarak, 2015)

- Metode mekanik terdiri dari metode pengepresan (*expeller/press*) dan *ultrasonic-assisted extraction*. Pada metode pengepresan (*expeller/press*) alga yang sudah siap panen dikeringkan terlebih dahulu untuk mengurangi kadar air yang masih pada biomassa. Selanjutnya dilakukan pengepresan biomassa dengan alat pengepres untuk mengekstraksi minyak yang terkandung dalam alga. Dengan menggunakan alat pengepres ini, dapat di ekstrasi sekitar 70–75% minyak yang terkandung dalam alga (Amini, 2010). Pada prinsipnya metode *ultrasonic-assisted extraction* menggunakan reaktor ultrasonik. Gelombang ultrasonik digunakan untuk membuat gelembung kavitasi (*cavitation bubbles*) pada material larutan. Ketika gelembung pecah dekat dengan dinding sel maka akan terbentuk gelombang kejut dan pancaran cairan (*liquid jets*) yang akan membuat dinding sel pecah. Pecahnya dinding sel akan membuat komponen di dalam sel keluar bercampur dengan larutan.
- Minyak dari alga dapat di ekstrak dengan menggunakan larutan kimia, misalnya dengan menggunakan *benzena*, *ether*, dan heksana. Penggunaan larutan kimia heksana lebih banyak

digunakan sebab harganya tidak terlalu mahal. Menurut Amini (2005), larutan heksana dapat digunakan langsung untuk mengekstraksi minyak dari alga. Setelah proses ekstraksi, larutan ekstrak yang terdiri dari campuran heksan dan minyak kemudian dipisahkan dengan menggunakan distilasi sederhana yang menggunakan kondensor liebig.

II.8 Analisa Gas Chromatography (GC)

Analisa GC (*Gas Chromatography*) merupakan teknik pemisahan yang didasarkan pada distribusi dari komponen untuk dipisahkan menggunakan sistem 2 fase yaitu solid atau liquid (fase diam) dan gas (fase bergerak). Fase bergerak ini menggunakan gas inert dan biasanya digunakan gas seperti nitrogen, helium atau hidrogen yang mana gas tersebut hanya untuk membawa solute sepanjang poros dari kolom. *Gas Chromatography* merupakan salah satu metode pemisahan yang paling penting dan paling ekonomis dibanding semua metode pemisahan yang lain. Rentang aplikasi dari GC meliputi analisis gas alam sampai produk petroleum berat (rantai karbon sampai C130), oligosakarida, lipid, dan lain-lain.



Keterangan : (a) Tabung Gas Pembawa; (b) *Injector*; (c) Kolom;
(d) Oven Kolom; (e) *Detector*;
(f) *Controller*; (g) *Recorder*

Gambar II.9 Komponen Dasar Sistem GC Modern

Dalam melakukan analisa, sampel diinjeksikan melalui injector dan komponen yang menguap dibawa menuju ke kolom, dimana pemisahan terjadi. Kolom diletakkan dalam oven dan temperatur bisa dijaga konstan (*isothermal operation*) atau diprogramkan (*temperature-programmed operation*). Setelah pemisahan, berkas komponen meninggalkan kolom dan terekam sebagai fungsi waktu (kromatogram) oleh alat pendeteksi. Hasil *residence time* dari komponen dapat digunakan untuk penafsiran secara kualitatif atau identifikasi komponen. Respon detektor sebanding dengan jumlah komponen sampel yang dipisahkan dan memberikan informasi kuantitatif terhadap komposisi campuran. (Gunzler, H. and Williams, A., 2001)

II.9 Penelitian Sebelumnya

- Zul, Delita, dkk pada tahun 2003, melakukan penelitian berjudul **Mutagenesis pada *Kluyveromyces marxianus* T-2 penghasil Inulinase Ekstraselular dengan Sinar Ultra Violet**. Penelitian dilakukan dalam dua tahap, tahap pertama merupakan mutagenesis *K. marxianus* T-2 dengan sinar uv berpanjang gelombang 254 nm pada berbagai jarak dan waktu radiasi. Panjang gelombang 254 nm dipilih karena penyerapan maksimum DNA terjadi pada panjang gelombang tersebut. Tahap kedua adalah produksi inulinase ekstraselular dari mutan *K. marxianus* T-2 yang diperoleh dari tahap pertama.

Hasil percobaan yang didukung dengan analisis statistik menunjukkan bahwa mutagenesis telah menyebabkan pertumbuhan mutan lebih baik dibandingkan tipe liar. Mutagenesis dengan sinar uv pada *K.marxianus* T-2 menyebabkan penurunan persentase sel hidup, peningkatan pertumbuhan diameter koloni mutan, aktivitas spesifik inulinase ekstraselular, dan penambahan berat kering sel.

Diameter koloni terbesar (8,66 mm), aktivitas spesifik inulinase ekstraselular tertinggi (0,094 U/mg), dan berat kering sel tertinggi (2,37 mg/mL) dihasilkan oleh mutan *K.*

marxianus T-2 yang diradiasi pada jarak 30 cm dengan waktu 60 detik.

- Sudharshan pada tahun 2009, melakukan penelitian ***Investigations on Ultraviolet Light and Nitrous Acid Induced Mutations of Halotolerant Bacterial Strains for the Treatment of Tannery Soak Liquor***. Bahan yang digunakan yaitu bakteri halotolerant yang diisolasi dengan air laut, endapan garam (15% dan 20% NaCl w/v). Isolasi bakteri halotolerant berasal dari sampel dengan nutrient medium dengan komposisi: Intisari *Peptic* dari hewan; 10, NaCl; 5, ekstrak daging; 5 dan Agar; 15. Mutagenesis dengan radiasi sinar ultraviolet. UV dengan daya 15 W mercury. Sinar UV memiliki *rate* posisi dari suspensi bakteri sebesar 0,5 J/m² (Model J-225, Ultraviolet Products, Inc.).

Dapat disimpulkan bahwa bakteri *Halotolerant* dimutasi dengan *asam nitrous* (HNO₂). Hasil indikasi strain untuk mutasi kimia (*nitrous acid*) dapat lebih efisien untuk menurunkan salinitas yang tinggi.

- Rao, A. Ranga, dkk, pada tahun 2012, melakukan penelitian berjudul ***Cultivation of green alga Botryococcus braunii in Raceway, Circular Ponds Under Outdoor Conditions and Its Growth, Hydrocarbon Production***. Penelitian ini menggunakan Metode mikro stain alga yaitu strains *B. braunii* yang diperoleh dari pembudidayaan *B. Braunii* yang diperoleh dari pembudidayaan dari UTEX culture. Kemudian inokulasi 25% *botryococcus braunii* (panjang 1.13 m; lebar 0.6 m; lebar 0.3 m) di bawah kondisi agitasi 15 rpm.

Proses kultivasi dilakukan selama 18 hari serta digunakan Analisa Estimasi Volum *B. Braunii* hasil sisa ekstrak dengan methanol di ulang-ulang. Kemudian membaca absorbansi ekstrak pada 645 dan 661.5 nm.

Dapat disimpulkan bahwa *Botryococcus braunii* akan memproduksi hidrokarbon dan seluruhnya untuk memperbaiki

metode pengolahan dan memfokuskan pengolahan *botryococuss braunii* dibawah kondisi pertumbuhan.

- Jennifer et al, pada tahun 1998 melakukan penelitian berjudul ***Effect of UV-B on Lipid Content of Three Antarctic Marine Phytoplankton***. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perubahan spesies terutama kadar lipid dan komposisi terhadap penyinaran sinar UV-B baik yang rendah maupun tinggi terhadap 3 fitoplankton antartika. Hasil yang didapat bahwa pada fitoplankton laut kadar lipid per sel nya meningkat ketika disinari UV-B tingkat tinggi yang disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi free fatty acid dan mungkin menunjukkan degradasi lipid yang kompleks selama proses penyinaran UV-B tingkat tinggi.
- Lingui Xue et al, pada tahun 2005 melakukan penelitian berjudul ***Effects of enhanced Ultraviolet-B Radiation on Algae and Cyanobacteria***. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hasil dari fisiologi, pertumbuhan, dan karakteristik molekular mikroalga terhadap radiasi UV-B. Studi ini juga berfokus pada efek dari pertahanan alga terhadap radiasi UV-B.

Pemaparan dengan sinar UV-B secara terus-menerus menurunkan kandungan klorofil, akan tetapi meningkatkan senyawa penyerap UV-B pada alga. Menurunnya fotosintesis pada alga, terutama pada dosis penyinaran UV-B yang tinggi, dipengaruhi oleh efek langsung (efek pada fotosistem) dan tidak langsung (penurunan pigmen). Penurunan pigmen klorofil dan fotosintesis menghasilkan biomassa yang lebih rendah. Akan tetapi, alga telah berevolusi dan membentuk mekanisme pertahanan untuk melindungi diri dari efek merusak dari radiasi UV-B.

- Arief Widjaja, pada tahun 2009 melakukan penelitian berjudul ***Study of Increasing Lipid Production from Fresh Water***

Microalgae Chlorella vulgaris. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui faktor penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga seperti kadar konsentrasi CO₂, pengurangan nitrogen, waktu pemanenan, serta jenis ekstraksi yang digunakan. Kadar konsentrasi CO₂ yang digunakan yaitu 0 mL/menit; 20 mL/menit; 50 mL/menit; dan 200 mL/menit. Mikroalga yang telah ditambahkan CO₂ kemudian dikultur selama 15 hari dan dilakukan analisa *Optical Density (OD)* setiap 24 jam.

Berdasarkan hasil percobaan, dapat disimpulkan bahwa mikroalga dengan penambahan kadar konsentrasi CO₂ memiliki nilai *Optical Density (OD)* yang cenderung lebih tinggi dibanding mikroalga alami (tanpa penambahan CO₂), dan nilai *Optical Density (OD)* yang paling baik ditunjukkan oleh penambahan kadar CO₂ sebanyak 50 mL/menit.

- Mukti Mulyawan dan Eny Setyowati, pada tahun 2015 melakukan penelitian berjudul **Pengaruh Mutagen Sinar UV-B dan HNO₂ terhadap Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus braunii***. Pada penelitian ini, dilakukan mutasi terhadap *B.braunii* dengan mutagen HNO₂ dan sinar UV-B. Mutasi dengan sinar UV-B dilakukan dengan beberapa variabel *exposure time*, yaitu 1,5 menit, 3 menit, dan 30 menit. Untuk mutasi dengan HNO₂ pada *B.braunii* dilakukan dengan cara menambahkan HNO₂ sebanyak 20 ml pada media tumbuh mikroalga (perbandingan 1:1 untuk HNO₂ dan mikroalga alami). Lalu ditambahkan air laut sebanyak 80 ml dengan perbandingan 1:4.

Dapat disimpulkan bahwa mutagenesis dapat menaikkan produktivitas jumlah sel. Dari semua variabel mutasi, proses mutasi UV-B dengan lama paparan 1,5 menit merupakan dosis terbaik yang dibuktikan dengan produktivitas sel yang lebih baik jika dibandingkan dengan variabel lama paparan yang lain

- Galih Hariseno dan Alfi Nuristiandari, pada tahun 2015 melakukan penelitian yang berjudul **Pengaruh Mutagen HNO₂ dan Sinar UV-B terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga**. Pada penelitian ini dilakukan mutasi terhadap *Botryococcus braunii* dan *Chlorella vulgaris* dengan menggunakan sinar UV-B dan HNO₂. Penelitian ini menggunakan prosedur yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Mukti 2015 dengan hasil yang serupa dimana dosis pemaparan UV-B selama 1,5 menit merupakan yang terbaik. Akan tetapi untuk mikroalga *Chlorella vulgaris* tidak menunjukkan adanya peningkatan produktivitas sel setelah dilakukan mutasi dibanding sel alaminya.
- Muhammad Helmi Faisal dan Dinny Amrina Maharani, pada tahun 2016 telah melakukan penelitian yang berjudul **Pengaruh Kadar CO₂ terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B**. Variabel waktu pemaparan sinar UV-B sama dengan yang dilakukan Mukti Mulyawan dan Eny Setyowati pada tahun 2015, sedangkan variabel konsentrasi CO₂ yang digunakan yaitu 0 mL/menit, 50 mL/menit dan 200 mL/menit.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Penambahan CO₂ pada mikroalga mutan mempunyai tingkat pertumbuhan sel lebih baik dibanding penambahan CO₂ pada mikroalga alami dan produktivitas lipid paling tinggi dihasilkan oleh mikroalga mutan 1,5 menit sebesar 0,340 (mg/mL)/hari. Hal ini menunjukkan bahwa mutagen UV-B dengan *exposure time* 1,5 menit merupakan mutagen yang paling efektif untuk meningkatkan produktivitas lipid.

(halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan gas CO₂ dan siklus pencahayaan terhadap pertumbuhan dan produktivitas lipid mikroalga *Botryococcus braunii* termutasi UV-B dan alami. Penelitian diawali dengan melakukan proses kultur mikroalga selama 3 hari kemudian melakukan mutasi menggunakan sinar UV-B, dilanjutkan dengan penambahan kadar CO₂ dan siklus pencahayaan selama 10 hari. Semua mikroalga dianalisa nilai *Optical Density* (OD) setiap 24 jam. Kemudian dilakukan pemanenan, pemisahan biomassa mikroalga dari medianya dengan alat sentrifuge dan ekstraksi lipid. Untuk mengetahui kandungan asam lemak bebas dan trigliserida (FFA dan TAG) yang dihasilkan oleh mikroalga dilakukan analisa GC (*Gas Chromatography*).

III.1 Variabel Penelitian

III.1.1 Kondisi Operasi

1. Intensitas cahaya 6.000 lux, jarak 3 cm dari wadah mikroalga.
2. *Flowrate* aerasi : 0,75 L/min.
3. *Flowrate* CO₂ murni : 15 mL/min
4. Suhu 30 °C.

III.1.2 Variabel Penelitian

1. Siklus pencahayaan (terang : gelap) = 12 jam : 12 jam ; 16 jam : 8 jam ; 24 jam : 0 jam.
2. Mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan termutasi UV-B.

III.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2017 – Juni 2017. Proses budidaya kultur mikroalga, analisa jumlah sel, analisa *Optical Density* (OD), ekstraksi lipid dan analisa GC (*Gas Chromatography*) dilakukan di Laboratorium Teknologi

Biokimia, Jurusan Teknik Kimia, ITS Surabaya. Pengukuran kadar salinitas air laut di Laboratorium Ekologi, Jurusan Biologi, ITS Surabaya.

III.3 Bahan dan Alat Penelitian

III.3.1 Bahan Penelitian

1. Bibit mikroalga *Botryococcus braunii* (Balai Budidaya Air Payau Situbondo, Jawa Timur).
2. *Aquadest*.
3. Air laut (Pasar Ikan Gunung Sari, Surabaya).
4. Nutrien Walne, yang memiliki komposisi per 1 Liter mengacu pada Isnansetyo & Kusniastuty (1995): 100 mg/L NaNO_3 , 45 mg/L Na_2EDTA ; 33,6 mg/L LH_3BO_3 ; 20 mg/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1,3 mg/L; 0,36 mg/L $\text{LMnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,1 mg/L Vitamin B1, 0,005 mg/L Vitamin B12.
5. Gas CO_2 (Aneka Gas, Sidoarjo).
6. Pelarut *N-hexane*.

III.3.2 Alat Penelitian

- **Perlengkapan Dasar**
 1. Erlenmeyer 500 mL
 2. *Beaker glass* 5 L
 3. Pipet ukur 10 mL
 4. Pipet tetes
 5. Corong kaca
 6. Kertas pH
 7. Gelas ukur 100 mL
- **Kultur Mikroalga**
 1. *Autoclave* (Astell Scientific, Inggris)
 2. Kompresor (Imola-75)
 3. Lampu *Fluorescent* Putih 21 W (Glorious TS, China)
 4. Lux Meter Lutron LX-105 (Taipei, Taiwan)
 5. *Hand Refractometer Manual* (Atago, Tokyo)

- **Mutasi**
 1. Lampu UV-B 20 W (Evaco F 20T0 GL – Prancis)
 2. *Petridish*
- **Peralatan Perhitungan Jumlah Sel**
 1. *Biological Microscope* (Novel, China)
 2. Hemasitometer (Brand – Jerman)
 3. *Spectrophotometer* (Cecil CE 1011, Inggris)
- **Ekstraksi dan Pemisahan Lipid**
 1. *Centrifuge* (Hermle, Jerman)
 2. Botol *Centrifuge*
 3. *Analytical Balance* (Ohaus, China)
 4. *Round Bottom Flask* 500 mL (Schott Duran)
 5. Ekstraktor Soklet (Brand Germany)
 6. *Condensor reflux*
 7. *Filter Paper* (Whatman)
 8. Oven (Sheldon, USA)
 9. *Hot plate* 34530 (Snijders)
 10. Labu distilasi 500 mL (Iwaki Pyrex)
 11. *Condensor liebig*
- **Analisa GC**
 1. Shimadzu GC-2010
 2. Kolom Agilent ZB-5HT

III.4 Kondisi Operasi Penelitian

Tahap I : Kultur *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B

1. Mikroalga *Botryococcus braunii* dari Balai Budidaya Air Payau, Situbondo
2. Kondisi tumbuh *Botryococcus branuii* alami dan termutasi UV-B
 - Rasio pencahayaan terang : gelap = 12 : 12 jam
 - Volume masing-masing 1,5 L
 - Salinitas air laut 21 ppm
 - Suhu (27 – 31 °C)
 - Intensitas cahaya 6.000 lux

- Waktu kultur 3 hari
 - 5 tetes Nutrien Walne tiap 12 jam
 - *Flowrate* aerasi : 0,75 L/min
3. Kondisi operasi penambahan kadar CO₂ dan siklus pencahayaan
- Mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan termutasi UV-B masing-masing sebanyak 500 mL
 - *Flowrate* aerasi : 0,75 L/min
 - Penambahan kadar CO₂ : 15 mL/menit
 - Waktu kultur : 10 hari
 - Siklus pencahayaan (terang : gelap) = 12 jam : 12 jam ; 16 jam : 8 jam ; 24 jam : 0 jam.

Tahap II : Ekstraksi Lipid

1. Kondisi operasi ekstraksi *soxhlet*
 - Waktu ekstraksi : 6 jam
 - Pelarut : n-heksan 150 mL
 - Suhu operasi : 70°C
 - Menggunakan air pendingin dengan suhu 10-15°C
2. Kondisi operasi distilasi
 - Suhu operasi : 70°C
 - Waktu distilasi : 2 jam
 - Menggunakan air pendingin dengan suhu 10-15°C

III.5 Analisa Penelitian

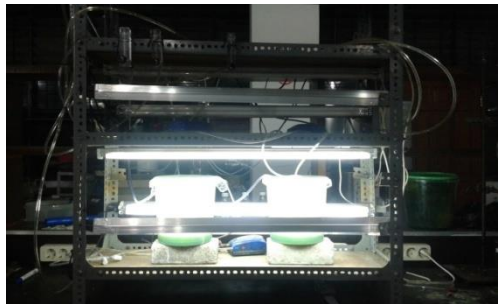
- a. Analisa kadar salinitas menggunakan *hand refractometer*.
- b. Analisa intensitas cahaya menggunakan *lux meter*.
- c. Pengecekan pH menggunakan kertas pH (tiap 24 jam).
- d. Analisa jumlah sel dengan metode *counting chamber* (tiap 24 jam).
- e. Analisa *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 680 nm dengan menggunakan spektrofotometer (tiap 24 jam).

- f. Analisa kandungan lipid menggunakan GC (*Gas Chromatography*).

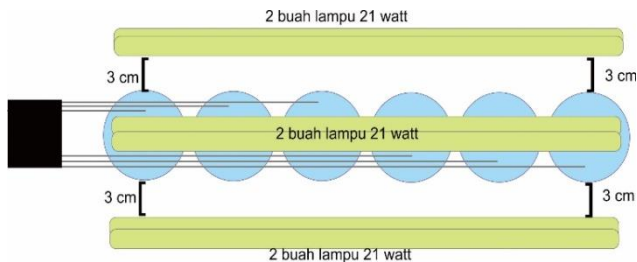
III.6 Data yang Dihasilkan

- Pertumbuhan *Botryococcus braunii*
- Perubahan pH
- Perbandingan sel akhir dibanding sel awal
- Perbandingan sel akhir mutan dengan sel akhir alami
- Perbandingan perubahan *Optical Density* (OD) pada variabel penambahan kadar CO₂ dan siklus pencahayaan
- Perbandingan biomassa dari *Botryococcus braunii*
- Kandungan lipid dari *Botryococcus braunii*
- Analisa kuantitatif lipid menggunakan GC

III.7 Gambar Alat Kultur



Gambar III.1 Rangkaian Alat Kultur Mikroalga



Gambar III.2 Desain Alat Kultur Tampak Atas

Desain alat kultur pada penelitian ini, mikroalga ditempatkan pada *beaker glass* ukuran 5 Liter yang ditutup menggunakan *plastic wrap* bening untuk menghindari kontaminasi. Diberikan sirkulasi udara (dari kompresor melalui selang-selang) di dalamnya. Lampu *flouresence* dipasang pada posisi atas, depan dan belakang dari wadah mikroalga dengan jarak 3 cm.

III.8 Tahapan Metode Penelitian

III.8.1 Sterilisasi Bahan dan Alat

Air laut yang akan digunakan untuk kultur sebanyak 3 L dituangkan dalam *beaker glass* kemudian disegel dan disterilisasi dengan *autoclave* pada temperatur 121°C dan tekanan 1 atm selama 15-20 menit, begitu pula dengan alat-alat yang akan digunakan seperti erlenmeyer ukuran 500 mL tempat medium, *petridish* serta alat-alat lain disterilisasi dengan cara serupa.

III.8.2 Pre-Kultur Mikroalga *Botryococcus braunii*

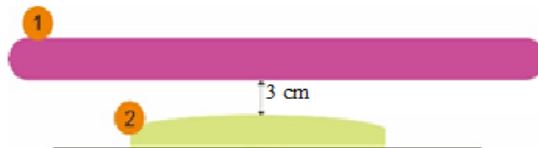
Tempat yang digunakan untuk budidaya mikroalga *B.braunii* adalah *beaker glass* bervolume 5 L, dengan menggunakan rangkaian alat seperti pada **Gambar III.1**. Sebelum digunakan, semua alat-alat yang akan digunakan telah disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C untuk membunuh mikroorganisme.

Step pertama adalah mengocok secara perlahan bibit mikroalga yang terdapat dalam botol sampai homogen (tidak ada mikroalga yang menempel pada dinding botol). Kemudian memanaskan air laut sebanyak 4 L sampai suhu ruangan (27°C). Lalu menuangkan 1 L bibit mikroalga ke dalam *beaker glass* secara perlahan kemudian mencampurkan air laut hangat dengan bibit mikroalga. Adapun tujuan proses pemanasan air laut adalah untuk mengkondisikan suhu optimal media tumbuh mikroalga, dimana mikroalga akan tumbuh optimal pada suhu 23° – 30°C.

Setelah itu memasukkan *sparger* ke dalam *beaker glass* yang berfungsi untuk sirkulasi udara sehingga terjadi secara

kontinu. Setelah itu memasang lampu 21 watt sebanyak 2 buah pada sisi depan, belakang, dan atas *beaker glass* dengan jarak 3 cm. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Widjaja (2009). Lampu di atur dengan keadaan 12 jam terang dan 12 jam gelap, dengan intensitas cahaya lebih dari 6000 lux atau sekitar $77,08 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ (Zhang and Kojima, 1998).

III.8.3 Proses Mutasi Mikroalga dengan Sinar UV-B



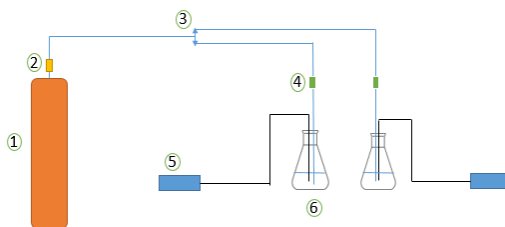
Gambar III.3 Instalasi Alat Mutasi UV-B

Keterangan :

1. Lampu UV-B
2. *Petridish* berisi mikroalga *B.braunii*

Mengacu pada Zul (2003), mutasi dilakukan dengan lampu UV-B germicidal dengan perlakuan di dalam ruang yang digelapkan. Selama radiasi berlangsung, tutup *petridish* dibuka agar transmisi sinar UV-B tidak terhalang. Sebelum dimutasi menggunakan UV-B, diambil sampel untuk dianalisa jumlah sel mula-mula. Kemudian mikroalga disinari dengan posisi sinar UV-B lurus di atas sel target dengan jarak 3 cm selama 3 menit. Untuk mengetahui jumlah sel yang bertahan hidup dari proses mutasi UV-B, kembali dilakukan analisa *counting chamber*.

III.8.4 Penambahan CO₂ dan Siklus Pencahayaan



Gambar III.4 Desain Alat untuk Penambahan CO₂

Keterangan : 1. Tabung CO₂ 4. Rotameter
 2. Regulator 5. Aerator
 3. Splitter 6. Erlenmeyer

Gas CO₂ ditambahkan pada mikroalga *B. Braunii* alami dan termutasi UV-B dengan dialiri udara 0,75 L/menit dan dilakukan analisa *counting chamber* setiap 24 jam. Menurut Tasic (2016), kandungan CO₂ di udara sangat kecil yaitu sekitar 0,03% atau sekitar 300 ppm, sehingga dibutuhkan penambahan kadar CO₂ agar pertumbuhan mikroalga dapat tumbuh optimal. Penambahan konsentrasi CO₂ dilakukan dengan menggunakan selang yang terhubung pada tabung gas CO₂. Pengaturan *rate* CO₂ diatur dengan menggunakan *flowmeter*. Sedangkan variabel siklus pencahayaan dilakukan untuk mengetahui durasi pencahayaan terbaik untuk mikroalga. Variabel yang digunakan adalah rasio antara durasi terang dan gelap yaitu 12 : 12 jam, 16 ; 8 jam serta 24 : 0 jam. Untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga *B.braunii* selama 10 hari penambahan CO₂ dan siklus pencahayaan dilakukan analisa *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer setiap 24 jam. Analisa OD dilakukan pada panjang gelombang 680 nm dengan mengukur %transmitan (Lee et al, 1998). Selain itu juga dilakukan pengujian pH menggunakan kertas pH setiap 24 jam.

III.8.5 Pengukuran Intensitas Cahaya



Gambar III.5 Alat *Lux Meter*

Pengukuran intensitas cahaya dengan menggunakan *Lux meter*. Prinsip kerja alat ini yaitu menempelkan bagian lampu *detector* pada seperangkat lampu yang akan diukur intensitasnya sesuai dengan kondisi yang digunakan (dalam hal ini jarak yang diambil adalah 3 cm dari lampu). Kemudian tekan tombol power pada posisi angka 1 dan tekan lux serta atur range cahaya yang terdeteksi pada layar *Light meter*. Dengan range A = 0-1999, B = 2000-19990, C= 20000-50000.

III.8.6 Analisa Salinitas Air Laut



Gambar III.6 *Hand Refractometer*

Analisa salinitas air laut dapat digunakan dengan alat *hand refractometer*. Prinsip kerja dari alat ini adalah pembiasan cahaya. Pembiasan cahaya adalah pembelokan cahaya melewati

bidang batas dua medium yang berbeda indeks biasnya. Terjadinya pembiasan cahaya karena cahaya menembus media yang lebih rapat.

Hand refractometer mempunyai 1 lubang pengamat. Sampel air laut yang diambil berasal dari air laut (Pasar Ikan Hias Gunung Sari, Surabaya) dan meletakkannya pada kaca preparat *hand refractometer* kemudian sampel akan terbaca nilai salinitasnya. Nilai salinitas akan ditunjukkan dengan strip angka yang berwarna biru pada *hand refractometer*.

III.8.7 Analisa Jumlah Sel Mikroorganisme dengan Metode *Counting Chamber*

Sebelum menghitung jumlah sel, diperlukan pengenceran yang bertujuan mempermudah pengamatan *counting chamber*. Sebanyak 1 mL sampel mikroalga diambil menggunakan pipet ukur, diencerkan dengan aquadest hingga 10 mL.

Diambil sampel secukupnya dengan menggunakan pipet tetes dan diletakkan pada tepi kaca tutup, maka dengan sendirinya tetesan tersebut akan mengalir ke bawah kaca tutup dan mengisi ruang hitung. Jika jumlah sel dalam 1 persegi kecil lebih dari 10 sel dan dalam 1 persegi besar lebih dari 100 sel, maka sampel perlu diencerkan kembali. Letakkan hemasitometer pada meja objek mikroskop. Tetapkan 5 titik dari 16 kotak terkecil pada hemasitometer.

A				B
		C		
D				E

Gambar III.7 Penentuan Titik Hitung pada Hemasitometer

Hasil perhitungan jumlah sel setiap titiknya di rata – rata. Kemudian jumlah sel/mL dihitung menggunakan persamaan :

$$\text{Jumlah sel/mL} = \frac{\text{Jumlah sel tiap kotak}}{0,04 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}} \times \frac{1000}{1} \times \text{faktor pengenceran}$$

III.8.8 Ekstraksi Lipid

Menurut Widjaja (2009), langkah pertama itu penyaringan mikroalga. Diawali dengan menimbang massa botol *centrifuge* yang berisi kultur mikroalga, selanjutnya dilakukan penyaringan dengan *centrifuge* dengan kecepatan 8500 rpm selama 5 menit pada suhu 30°C (suhu ruangan) hingga diperoleh endapan. Setelah diperoleh endapan, *supernatant* hasil *centrifuge* dibuang dan endapan disaring kembali dengan *filter paper*, dengan menggunakan alat *vacuum pump*. Sebelum digunakan, *filter paper* ditimbang dahulu. Setelah penyaringan, massa *filter paper* dan alga basah ditimbang kemudian dilakukan proses pengeringan mikroalga menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 2 jam. Setelah 2 jam massa *filter paper* dan mikroalga kering kembali ditimbang.



Gambar III.8 Rangkaian Alat Ekstraksi Soxhlet

Kemudian sampel ditumbuk dengan mortal dan diekstrak menggunakan ekstraksi *soxhlet* seperti **Gambar III.8** dengan menggunakan pelarut n-heksan. Pelarut yang digunakan adalah 150 mL pelarut dalam setiap ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan selama 6 jam hingga warna pelarut menjadi bening.

Campuran n-heksan dan lipid yang terekstrak kemudian dipisahkan dengan cara distilasi seperti pada **Gambar III.9** di bawah. Distilasi dilakukan selama 2 jam dengan menggunakan labu distilasi dan kondensor *liebig*. Suhu operasi distilasi dijaga 70 °C.



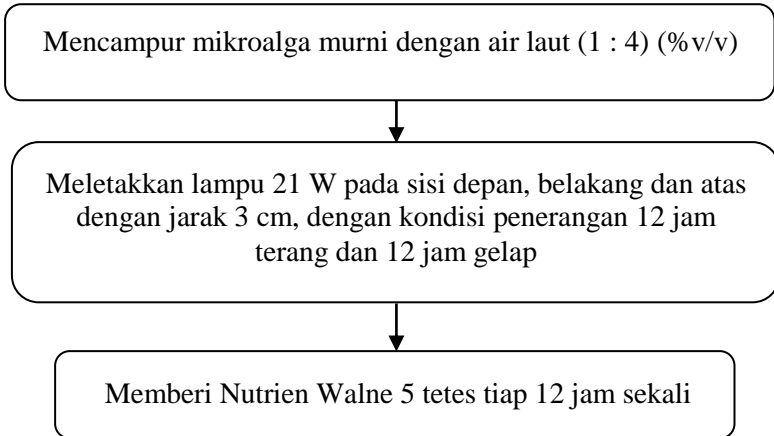
Gambar III.9 Rangkaian Alat Distilasi

III.8.9 Analisa GC (*Gas Chromatography*)

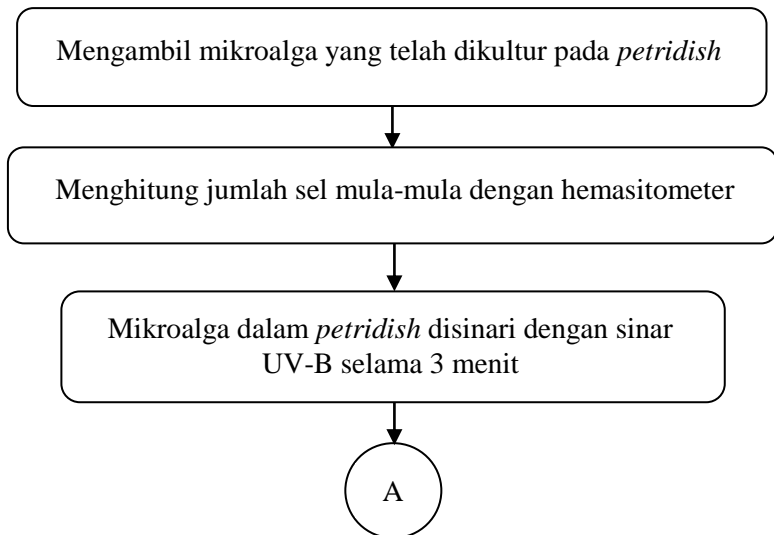
Kandungan trigliserida dan FFA dalam *crude lipid* mikroalga dianalisa menggunakan *Gas Chromatography*. Analisa kuantitatif dilakukan dengan Shimadzu GC-2010 gas chromatography (Kyoto, Japan) yang dilengkapi dengan *flame ionization detector*. Separasi dilakukan dengan ZB-5HT (5%-phenyl)-methylpolysiloxane non-polar *column* (15m x 0,32mm i.d.; dengan ketebalan film 0,1 μm). Temperatur injektor dan detector diatur pada suhu 370°C. Temperatur kolom dimulai pada 80°C meningkat menuju 305°C dengan laju 15°C/menit, lalu menuju 335°C dengan laju 5°C/menit dan dijaga pada suhu 335°C selama 5 menit. Selanjutnya, temperatur kolom ditingkatkan menuju 365°C dengan laju 15°C/menit. *Split ratio* 1:50 menggunakan nitrogen sebagai *carrier gas* dengan laju linier 30 cm/s pada 80°C. Sampel sebanyak 20 mg dilarutkan dalam 1 mL etil asetat, dan 1 μL sampel diambil dan diinjeksikan ke dalam GC.

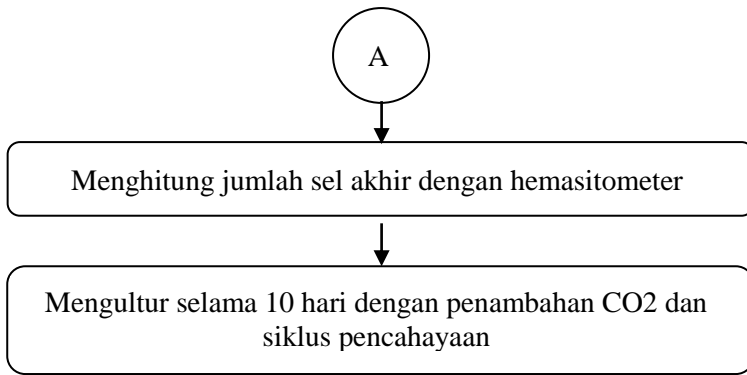
III.9 Diagram Alir Penelitian

III.9.1 Pre-Kultur Mikroalga *Botryococcus braunii*

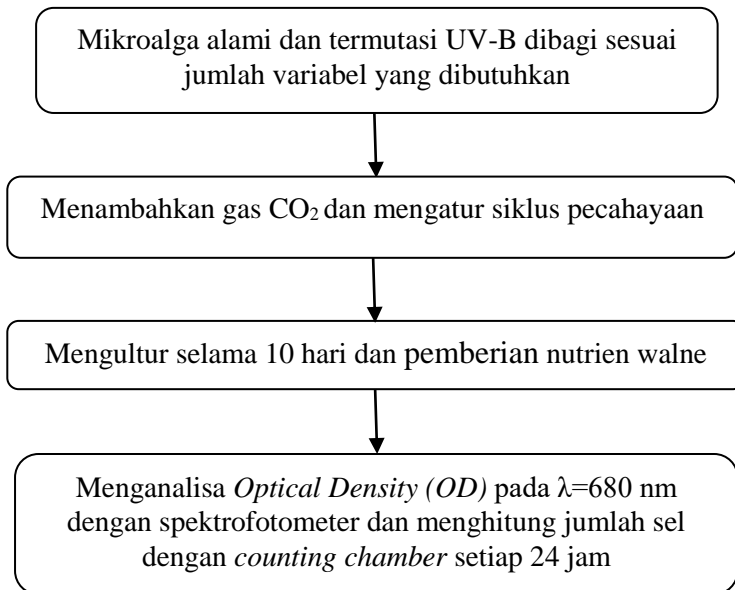


III.9.2 Mutasi Mikroalga dengan Sinar UV-B

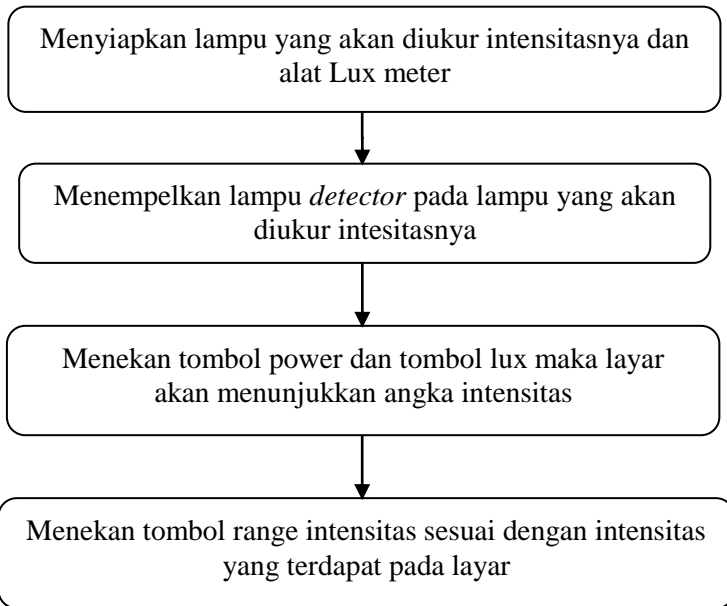




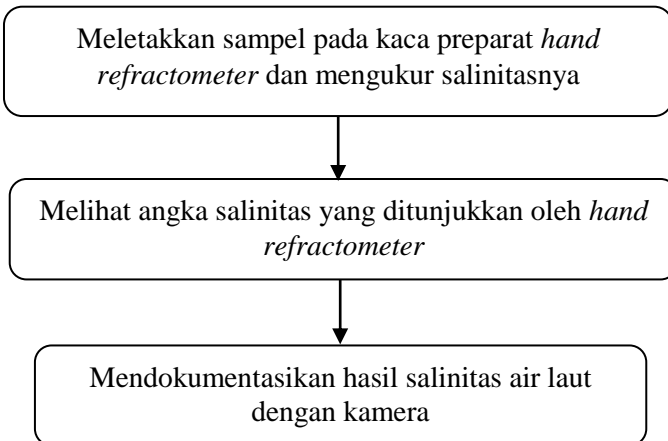
III.9.3 Penambahan CO₂ dan Siklus Pencahayaan



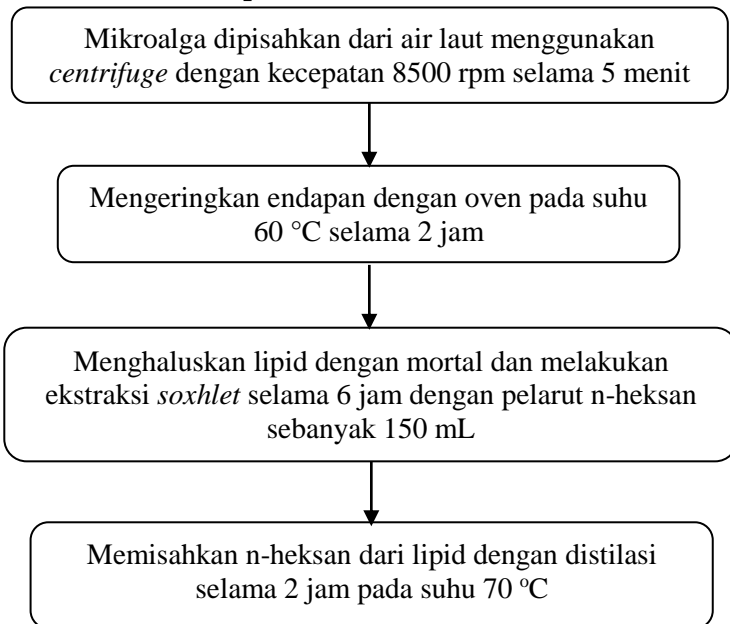
III.9.4 Pengukuran Intensitas Cahaya



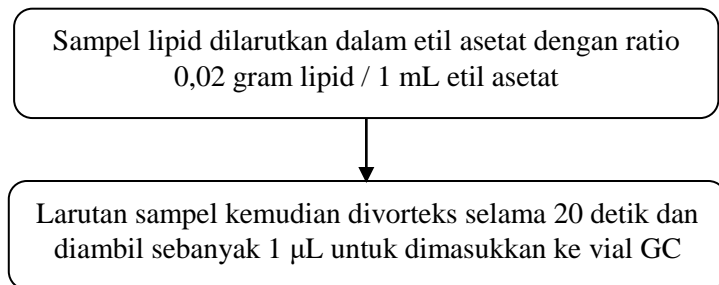
III.9.5 Pengukuran Salinitas



III.9.6 Ekstraksi Lipid



III.9.7 Analisa GC



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Mutasi *B.braunii* Alami Menggunakan Lampu UV-B

Perlakuan mutasi ini dilakukan untuk menghasilkan mutan mikroalga *B.braunii* yang memiliki karakteristik serupa dengan mutan yang telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya oleh Helmy-Dinny (2012) agar dapat dibandingkan hasil produktivitas lipid yang diperoleh nantinya. Karakteristik mutan serupa yang dimaksud dalam hal ini adalah mutan yang memiliki persentase kematian sel sebesar 26 – 30%. Jumlah sel *B.braunii* awal dengan jumlah sel yang hidup setelah pemaparan sinar UV-B dan persentase kematiannya disajikan dalam **Tabel IV.1**. Hasilnya menunjukkan bahwa terjadi penurunan persentase sel yang hidup setelah pemaparan sinar UV-B. Sel yang masih hidup setelah pemaparan sinar UV-B disebut sebagai mutan.

Tabel IV.1 Jumlah Sel *B.braunii* Sebelum dan Sesudah Mutasi Menggunakan Sinar UV-B

Pemaparan Sinar UV-B (Menit)	Run	Jumlah Sel <i>B.braunii</i> (sel/ml)		% Kematian Rata-rata
		Sebelum Mutasi	Setelah Mutasi	
1,5 Menit	Penelitian sebelumnya	129.000.000	93.000.000	27,91
1,5 Menit	Run 1	11.833.333	10.333.333	12,68
3 Menit	Run 1	11.833.333	8.500.000	26,29
	Run 2	11.833.333	9.000.000	
	Run 3	11.833.333	8.666.667	

Untuk mendapatkan karakteristik mutan yang serupa dengan penelitian sebelumnya, maka lama waktu pemaparan sinar UV-B juga dilakukan dengan kondisi yang sama seperti penelitian sebelumnya yaitu selama 1,5 menit. Namun setelah

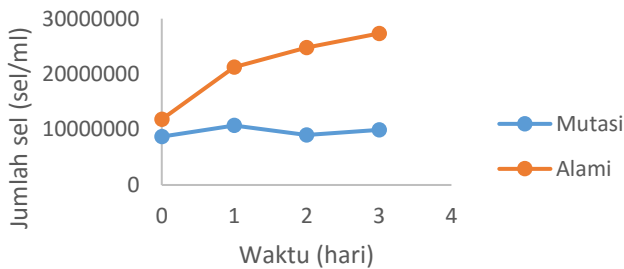
dilakukan mutasi selama 1,5 menit ternyata hasil persentase kematian sel yang diperoleh lebih rendah dibanding penelitian sebelumnya. Pada **Tabel IV.1** diatas terlihat bahwa persentase kematian sel dari penelitian sebelumnya dengan waktu paparan sinar UV-B selama 1,5 menit adalah sebesar 27,91 %, namun setelah dilakukan ulang didapatkan persentase kematian sel hanya sebesar 12,68 %. Adanya perbedaan dan hasil persentase kematian sel yang tidak konsisten ini diduga disebabkan karena menurunnya daya radiasi dari lampu UV-B yang digunakan sehingga perlu dilakukan mutasi ulang dengan waktu paparan yang lebih lama dan diperoleh waktu paparan sinar UV-B selama 3 menit dengan persentase kematian sel rata-rata sebesar 26,29 % dari 3 kali pengulangan. Dari hasil yang didapat terlihat bahwa lamanya waktu paparan sinar UV-B mempengaruhi persentase kematian sel. Semakin lama waktu paparan sinar UV-B menyebabkan semakin besarnya dosis radiasi yang diterima oleh sel *B.braunii* dan menyebabkan lebih banyak sel yang mati sehingga menghasilkan persentase kematian sel yang besar pula. Sinar UV-B memang dikenal memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan, kelangsungan hidup, pigmentasi, metabolisme maupun fotosintesis dari mikroalga. Peningkatan radiasi UV-B secara umum akan menurunkan kandungan klorofil dan menurunkan fotosintesis (efek pada fotosistem). Penurunan kandungan klorofil dan fotosintesis ini menghasilkan biomassa yang lebih rendah. (Xue et al, 2005). Jadi untuk penelitian selanjutnya menggunakan waktu paparan radiasi UV-B selama 3 menit untuk mendapatkan karakteristik mikroalga mutan yang konsisten dengan persen kematian ± 27 %.

IV.2 Pre-Kultur *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B

Setelah tahap mutasi, maka tahap selanjutnya yang dilakukan yaitu mengkultur atau mengembangbiakkan mikroalga *B.braunii* alami dan termutasi UV-B selama 3 hari. Hasil pertumbuhan sel *B.braunii* alami dan termutasi UV-B selama 3 hari disajikan dalam **Tabel IV.2** berikut :

Tabel IV.2 Jumlah Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Selama 3 Hari Kultur

Hari ke	Jumlah Sel <i>B.braunii</i> (sel/ml)	
	Alami	Termutasi UV-B
0	11.833.333	8.722.222
1	18.000.000	10.722.222
2	20.666.667	9.000.000
3	25.500.000	9.944.444



Gambar IV.1 Kurva Pertumbuhan *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B selama 3 Hari

Pada perhitungan jumlah sel dengan metode *counting chamber*, hanya sel yang hidup yang dihitung jumlahnya. Hal ini dapat diketahui pada warna mikroalga. Pada kondisi pertumbuhan optimal, mikroalga berwarna hijau tua pekat sedangkan mikroalga akan berwarna hijau kekuningan bila kondisi pertumbuhannya tidak optimal dan cenderung berwarna kuning bila mati.

Berdasarkan **Tabel IV.2** dan **Gambar IV.2** diatas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan pertumbuhan sel antara *B.braunii* alami dengan mutan UV-B. Pertumbuhan sel *B.braunii* alami meningkat setiap harinya, pada hari ke 0 jumlah sel *B.braunii* alami sebanyak 11.833.333 sel/ml dan pada hari ke 3 naik menjadi 25.500.000 sel/ml. Sedangkan pertumbuhan sel *B.braunii* mutan UV-B fluktuatif, pada hari ke 0 jumlah selnya

8.722.222 sel/ml dan pada hari ke 3 naik menjadi 9.944.444 sel/ml, namun jumlah sel mulai hari ke 0 sampai ke 3 ini tidak naik secara konstan melainkan naik turun (fluktuatif). Pertumbuhan sel mutan UV-B yang fluktuatif ini disebabkan oleh efek dari radiasi sinar UV-B yang menyebabkan menurunnya kandungan klorofil sehingga proses fotosintesis dan pertumbuhan sel tidak maksimal. Radiasi UV-B yang semakin tinggi memiliki 2 efek terhadap mikroalga, di satu sisi mikroalga akan rusak oleh radiasi UV-B, di sisi lain mikroalga menunjukkan perlindungan atau mekanisme pertahanan untuk mengakomodasi peningkatan paparan radiasi UV-B. Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan, hasilnya sebagian besar menunjukkan bahwa radiasi UV-B memiliki efek negatif terhadap pertumbuhan dan biomass mikroalga. (Xue et al, 2005).

IV.3 Penambahan Karbon Dioksida (CO₂) dan Pengaruh Siklus Pencahayaan

IV.3.1 Pertumbuhan Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B setelah Penambahan CO₂ pada Berbagai Siklus Pencahayaan

Pada tahap ini mikroalga *B.braunii* alami dan termutasi UV-B yang telah dikultur selama 3 hari ditambahkan gas CO₂ pada 3 siklus pencahayaan berbeda yaitu pada pencahayaan (terang : gelap) 24 jam : 0 jam ; 16 jam : 8 jam ; dan 12 jam : 12 jam. Mikroalga *B.braunii* alami dan termutasi UV-B dikultur selama 10 hari dan dilakukan perhitungan jumlah sel dan analisa *Optical Density* (OD) setiap harinya untuk mengetahui pertumbuhan sel yang ditandai dengan semakin keruhnya kultur mikroalga. Dalam analisa OD ini digunakan panjang gelombang 680 nm karena pada panjang gelombang tersebut memiliki nilai serapan maksimum. Panjang gelombang 680 nm akan diserap maksimum oleh klorofil a dari mikroalga.

CO₂ merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga karena CO₂ dibutuhkan untuk proses fotosintesis. Penambahan CO₂ sebesar 2% dari jumlah udara

merupakan kondisi yang optimal untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi metabolisme. Peningkatan yang signifikan terjadi pada biomassa, klorofil, karotenoid, hidrokarbon dan kandungan lemak dari *B.braunii*. (Rao et al, 2007).

Sebelum penambahan gas CO₂ dan perlakuan siklus pencahayaan, kondisi awal *B.braunii* alami dan mutan UV-B memiliki perbedaan dalam hal jumlah sel masing-masing. *B.braunii* alami memiliki jumlah sel dan nilai OD yang lebih besar dibanding mutan UV-B sehingga kondisi awal harus dibuat sama dengan nilai OD mutan UV-B sebagai acuan. Nilai OD awal mutan UV-B pada hari ke-0 sebesar 0,583 dengan jumlah sel awal 12.000.000 sel/ml sehingga dilakukan pengenceran pada kultur *B.braunii* alami dengan penambahan air laut untuk mendapatkan nilai OD awal yang mendekati nilai OD awal mutan UV-B. Setelah pengenceran dengan air laut didapatkan nilai OD awal *B.braunii* alami pada hari ke-0 sebesar 0,581 dengan jumlah sel awal 10.166.667 sel/ml. Tujuan penyamaan nilai OD pada hari ke-0 ini yaitu supaya pertumbuhan antara *B.braunii* alami dan mutan UV-B dapat dibandingkan dengan mudah. Data OD dan jumlah sel mikroalga *B.braunii* alami dan mutan UV-B setelah dikultur selama 10 hari dengan penambahan gas CO₂ pada beberapa siklus pencahayaan berturut-turut disajikan dalam **Tabel IV.3** dan **Tabel IV.4**.

Tabel IV.3 Jumlah Sel dan *Optical Density* *B.braunii* Alami setelah Kultur 10 Hari dengan Penambahan Gas CO₂ Variabel Siklus Pencahayaan

Hari ke	Variabel Siklus Pencahayaan (terang : gelap)					
	12 : 12		16 : 8		24 : 0	
	OD	Jumlah Sel (10 ⁶ sel/ml)	OD	Jumlah Sel (10 ⁶ sel/ml)	OD	Jumlah Sel (10 ⁶ sel/ml)
0	0,581	10,2	0,581	10,2	0,581	10,2
1	0,723	16	0,851	16	0,818	17,7

2	0,938	17,5	1,137	28,5	1,268	24,5
3	1,071	24,2	1,244	29,7	1,477	35,7
4	1,212	26	1,387	29,7	1,745	71
5	1,363	33,2	1,553	39	1,886	79,5
6	1,432	37,5	1,678	44,8	2,000	91,5
7	1,495	43,3	1,745	50,7	2,097	91,8
8	1,620	54,8	1,854	69,5	2,222	111,2
9	1,699	72,7	1,959	81,8	2,301	117
10	1,745	77,2	2,000	84,8	2,398	119,2

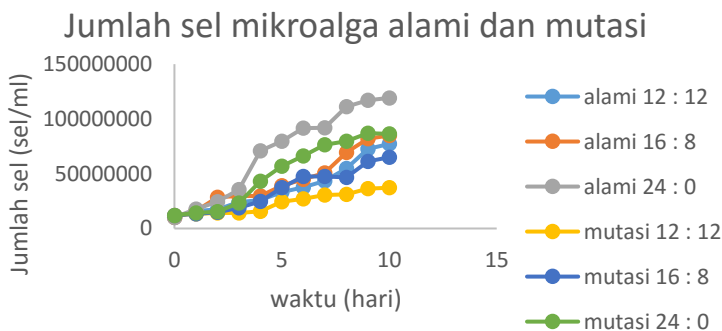
Berdasarkan **Tabel IV.3** diatas dapat terlihat dari perhitungan jumlah sel dengan metode *counting chamber* maupun dari nilai OD bahwa pertumbuhan sel *B.braunii* alami naik setiap harinya untuk ketiga variabel siklus pencahayaan. Jumlah sel awal pada hari ke 0 untuk ketiga variabel siklus pencahayaan sama yaitu sebanyak 10.166.667 sel/ml dengan nilai OD awal 0,581. Jumlah sel akhir pada hari ke 10 untuk variabel siklus pencahayaan 12 : 12 yaitu sebanyak 77.166.667 sel/ml dengan nilai OD 1,745. Untuk variabel siklus pencahayaan 16 : 8 sebanyak 84.833.333 sel/ml dengan nilai OD 2,000. Sedangkan untuk variabel siklus pencahayaan 24 : 0 memiliki jumlah sel sebanyak 119.166.667 sel/ml dengan nilai OD 2,398. Dari ketiga variabel siklus pencahayaan ini terlihat bahwa variabel siklus pencahayaan 24 : 0 merupakan variabel yang terbaik karena memiliki jumlah sel yang paling tinggi dibandingkan 2 variabel lainnya.

Tabel IV.4 Jumlah Sel dan *Optical Density* *B.braunii* Mutan UV-B setelah Kultur 10 Hari dengan Penambahan Gas CO₂ Variabel Siklus Pencahayaan

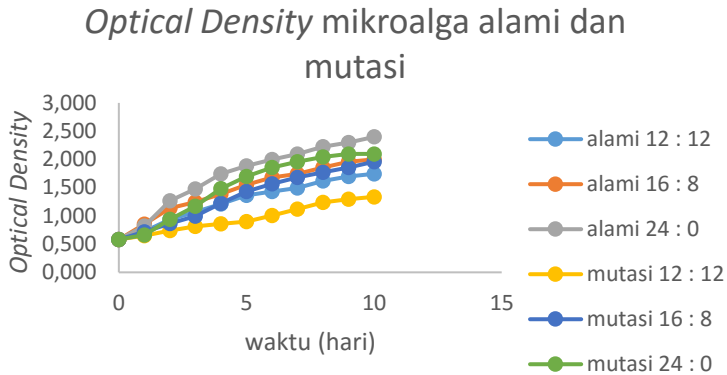
Hari ke	Variabel Siklus Pencahayaan (terang : gelap)					
	12 : 12		16 : 8		24 : 0	
	OD	Jumlah Sel (10 ⁶ sel/ml)	OD	Jumlah Sel (10 ⁶ sel/ml)	OD	Jumlah Sel (10 ⁶ sel/ml)
0	0,583	12	0,583	12	0,583	12
1	0,648	13,3	0,715	13,3	0,662	14,2
2	0,739	14,2	0,863	14,7	0,937	15,5
3	0,812	14,3	0,993	19	1,172	23,2
4	0,857	15,7	1,222	24,8	1,481	43
5	0,896	24,3	1,432	37,3	1,699	56,8
6	1,007	27,2	1,569	47,5	1,854	66,2
7	1,121	30,5	1,678	47,5	1,959	76,5
8	1,237	31,2	1,770	46,5	2,046	79,7
9	1,292	36,5	1,854	61,3	2,097	87
10	1,337	37,2	1,959	65	2,097	86,5

Untuk dapat membandingkan pengaruh siklus pencahayaan pada *B.braunii* alami dan mutan UV-B, maka variabel siklus pencahayaan juga dilakukan untuk mutan UV-B dimana data pertumbuhan sel dan OD mutan UV-B selama 10 hari disajikan pada **Tabel IV.4** diatas. Berdasarkan tabel diatas, dapat dilihat bahwa pertumbuhan mutan UV-B cenderung naik setiap harinya untuk ketiga variabel siklus pencahayaan. Jumlah sel pada hari ke 0 untuk ketiga variabel yaitu sebanyak 12.000.000 sel/ml dengan nilai OD awal sebesar 0,583. Jumlah sel akhir pada hari ke 10 untuk variabel siklus pencahayaan 12 : 12 sebanyak 37.166.667 sel/ml dengan nilai OD 1,337. Untuk variabel siklus pencahayaan 16 : 8 sebanyak 65.000.000 sel/ml dengan nilai OD 1,959. Sedangkan untuk variabel siklus pencahayaan 24 : 0 sebanyak 86.500.000 sel/ml dengan nilai OD 2,097. Dari ketiga variabel siklus pencahayaan untuk mutan UV-

B ini terlihat seperti halnya pada *B.braunii* alami yaitu bahwa variabel siklus pencahayaan 24 : 0 merupakan kondisi yang terbaik dibandingkan 2 variabel siklus pencahayaan yang lain karena memiliki pertumbuhan sel yang lebih tinggi. Dari **Tabel IV.4** diatas juga dapat terlihat bagaimana karakteristik pertumbuhan dari mutan UV-B untuk ketiga variabel siklus pencahayaan. Pada variabel siklus pencahayaan 12 : 12, jumlah sel naik setiap hari dari hari ke 0 sampai hari ke 10. Namun dalam 4 hari pertama, pertumbuhan selnya naik secara lambat dan dari hari ke 4 jumlah sel naik cukup pesat dimana pada hari ke 4 jumlah selnya 15.666.667 sel/ml dan pada hari ke 5 menjadi 24.333.333 sel/ml. Begitu halnya dengan variabel siklus pencahayaan 16 : 8 maupun 24 : 0, kedua variabel siklus pencahayaan ini juga memperlihatkan karakteristik pertumbuhan yang serupa dengan variabel 12 : 12, hanya saja pertumbuhan sel yang lambat tidak terjadi dalam 4 hari pertama, namun dalam 2 hari pertama dan setelah itu naik cukup pesat. Pada variabel 16 : 8, jumlah sel pada hari ke 2 sebanyak 14.666.667 sel/ml dan pada hari ke 3 menjadi 19.000.000 sel/ml. Sedangkan untuk variabel 24 : 0, jumlah sel pada hari ke 2 sebanyak 15.500.000 sel/ml dan pada hari ke 3 naik pesat menjadi 23.166.667 sel/ml.



Gambar IV.2 Grafik Pertumbuhan Sel *B.braunii* Alami dan Mutan UV-B



Gambar IV.3 Grafik *Optical Density* *B.braunii* Alami dan Mutan UV-B

Gambar IV.2 dan **Gambar IV.3** secara berturut-turut merupakan grafik perbandingan pertumbuhan sel dan *Optical Density* (OD) *B.braunii* alami dan mutan UV-B untuk ketiga variabel siklus pencahayaan. Berdasarkan kedua gambar diatas dapat terlihat bahwa dari seluruh variabel siklus pencahayaan untuk mikroalga *B.braunii* alami dan mutan UV-B, dapat terlihat bahwa *B.braunii* alami dengan siklus pencahayaan 24 : 0 merupakan variabel yang terbaik dibanding variabel lainnya karena memiliki pertumbuhan sel yang lebih cepat sejak hari ke 2 sampai akhir kultur hari ke 10. Jika dibandingkan pertumbuhan sel *B.braunii* alami dan mutan UV-B disetiap variabel siklus pencahayaan, ternyata *B.braunii* alami memiliki pertumbuhan sel yang lebih baik dibanding mutan UV-B. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Helmi-Dinny (2012) yang menyatakan bahwa mutan UV-B dengan persentase kematian sekitar 28 % memiliki pertumbuhan sel yang lebih baik dibanding *B.braunii* alami ketika ditambahkan CO₂ sebesar 2% dari rate aerasi.

IV.3.2 Perubahan pH selama 10 Hari Kultur

pH memiliki pengaruh pada pertumbuhan mikroalga. Tiap – tiap spesies mikroalga memiliki nilai toleran atau nilai minimum pH yang memungkinkan untuk kelangsungan hidupnya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Czeslawa (1996), menyimpulkan mikroalga tidak dapat tumbuh optimal pada pH di bawah 4,8 sebab, dinding sel mikroalga sudah tidak mampu lagi mempertahankan dirinya untuk bertahan hidup.

Dinding sel mikroalga berfungsi sebagai lapisan buffer atau lapisan untuk menjaga pH dalam tubuh mikroalga. Pada pH asam ($\text{pH} < 7$), mikroalga akan mengkonsumsi karbon dari HCO_3^- (CO_2 yang terlarut di dalam air) untuk membentuk lapisan buffer yang berfungsi melindungi dirinya dari kondisi lingkungannya sehingga mengakibatkan menurunnya kadar CO_2 terlarut dalam air sehingga pH media berangsur – angsur naik.

Pada pH yang terlampaui tinggi, mikroalga akan mengkonsumsi CO_2 langsung dari udara. Dalam hal ini CO_2 sangat mudah larut dalam air, akibatnya kadar CO_2 terlarut meningkat dan membentuk H_2CO_3 yang bersifat asam sehingga pH media berangsur – angsur turun (Czeslawa Nalewajko, 1996).

Dalam penelitian ini pH kultur tidak dikontrol, namun tetap diukur setiap harinya menggunakan kertas pH. Perubahan pH selama 10 hari kultur untuk semua variabel disajikan dalam Tabel IV.5.

Tabel IV.5 Perubahan pH Kultur Selama 10 Hari

Hari	pH Kultur					
	Alami			Mutan UV-B		
	12:12	16:8	24:0	12:12	16:8	24:0
0	8	8	8	8	8	8
1	7	7	7	7	7	7
2	7	8	7	6	6	7
3	7	7	7	7	7	7
4	7	7	7	6	7	7

5	7	7	7	7	7	7
6	7	7	7	7	7	7
7	7	7	7	7	7	7
8	7	7	7	7	7	7
9	7	7	7	7	7	7
10	7	7	7	7	7	7

Berdasarkan **Tabel IV.5** diatas terlihat bahwa pH kultur turun untuk semua variabel. Penurunan pH untuk semua variabel cenderung sama yaitu dari pH 8 saat hari ke 0 menjadi pH 7 saat hari ke 10 walaupun untuk mutan UV-B pH kultur sempat turun menjadi 6 untuk variabel 12 : 12 pada hari ke 2 dan ke 4 maupun variabel 16 : 8 pada hari ke 2. Namun, terjadinya penurunan pH ini tidak terlalu berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga. Meskipun pH kultur berubah antara 6 – 8, *B.braunii* tetap tumbuh dengan baik tanpa adanya hambatan tertentu. Telah dilaporkan juga oleh Dayananda et al (2007) bahwa pH kultur tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap *yield* biomassa dan produksi hidrokarbon dari *B.braunii* saat rentang pH 6 – 8,5. (Yaming Ge et al, 2011).

IV.3.3 Produktivitas Biomassa dan Lipid Variabel Siklus Pencahayaan

Tahap ini merupakan tahap selanjutnya setelah semua variabel dikultur selama 10 hari. Pada tahap ini semua kultur variabel siklus pencahayaan dengan penambahan CO₂dipanen untuk selanjutnya dilakukan ekstraksi dan distilasi untuk pemisahan lipid. Berat mikroalga kering *B.braunii* alami variabel 12 : 12, 16 : 8 dan 24 : 0 berturut-turut sebesar 0,772 gram; 1,015 gram dan 1,622 gram. Sedangkan berat mikroalga kering untuk mutan UV-B variabel 12 : 12, 16 : 8 dan 24 : 0 berturut-turut sebesar 0,677 gram; 1,172 gram dan 1,485 gram. Dari berat kering mikroalga akan didapatkan konsentrasi biomassa dalam 500 ml volume kultur sehingga massa sel juga dapat diperoleh.

Hasil konsentrasi biomassa dan massa sel untuk semua variabel disajikan dalam **Tabel IV.6**.

Tabel IV.6 Perhitungan Massa Sel per Jumlah Sel Mikroalga
Variabel Siklus Pencahayaan

Kondisi	Variabel	Konsentrasi Biomassa (mg/mL)	Konsentrasi Sel (sel/mL)	Massa Sel (mg/sel)
Alami	12 : 12	1,544	77.166.667	$2,001 \times 10^{-8}$
	16 : 8	2,030	84.833.333	$2,392 \times 10^{-8}$
	24 : 0	3,245	119.166.667	$2,723 \times 10^{-8}$
Mutan UV-B	12 : 12	1,354	37.166.667	$3,642 \times 10^{-8}$
	16 : 8	2,344	65.000.000	$3,605 \times 10^{-8}$
	24 : 0	2,970	86.500.000	$3,433 \times 10^{-8}$

Berdasarkan **Tabel IV.6** diatas dapat terlihat bahwa konsentrasi biomassa tertinggi untuk *B.braunii* alami dan mutan UV-B diperoleh pada variabel siklus pencahayaan 24 : 0 yang masing-masing sebesar 3,245 mg/mL dan 2,970 mg/mL, sedangkan konsentrasi biomassa terendah masing-masing pada variabel 12 : 12 sebesar 1,544 gram untuk alami dan 1,354 untuk mutan UV-B. Dari semua variabel, konsentrasi biomassa tertinggi diperoleh pada *B.braunii* alami variabel 24 : 0. Konsentrasi biomassa yang diperoleh untuk masing-masing variabel dipengaruhi oleh laju pertumbuhan masing-masing dimana laju pertumbuhan yang paling baik akan menghasilkan konsentrasi biomassa yang lebih besar, dimana seperti yang dijelaskan sebelumnya bahwa *B.braunii* alami variabel 24 : 0 memiliki pertumbuhan sel yang lebih baik dibanding variabel yang lain.

Dari **Tabel IV.6** diatas juga dapat diketahui massa sel untuk setiap variabel, dimana jika dibandingkan antara *B.braunii* alami dan mutan UV-B, maka diperoleh massa sel yang lebih besar pada mutan UV-B untuk ketiga variabel. Massa sel terbesar mutan UV-B diperoleh pada variabel 12 : 12 sedangkan massa sel terkecil diperoleh pada *B.braunii* alami variabel 12 : 12.

Berdasarkan data konsentrasi biomassa, konsentrasi sel dan massa sel, maka produktivitas biomassa dan produktivitas lipid untuk setiap variabel bisa diketahui. Data produktivitas biomassa dan produktivitas lipid disajikan dalam **Tabel IV.7** (halaman IV-19). Berdasarkan **Tabel IV.7** pertumbuhan sel yang paling pesat terjadi pada mikrolaga *B.braunii*alami variabel 24 : 0 dengan laju pertumbuhan 10,9 juta sel/ml/hari disusul oleh variabel alami 16 : 8 dengan laju pertumbuhan 7,467 juta sel/ml/hari. Laju pertumbuhan sel paling rendah terjadi pada mutan UV-B variabel 12 : 12 dengan laju pertumbuhan 2,516 juta sel/ml/hari. Dari hasil yang didapat pada **Tabel IV.7** juga terlihat bahwa produktivitas biomassa tertinggi dimiliki oleh *B.braunii* alami variabel 24 : 0 dengan produktivitas biomassa 0,297 mg/ml/hari, disusul oleh mutan UV-B variabel 24 : 0 sebesar 0,256 mg/ml/hari dan mutan UV-B variabel 16 : 8 sebesar 0,191 mg/ml/hari. Produktivitas biomassa terendah dimiliki oleh mutan UV-B variabel 12 : 12 sebesar 0,092 mg/ml/hari. Meskipun laju pertumbuhan sel alami variabel 16 : 8 lebih besar dibanding mutan UV-B variabel 24 : 0 dan 16 : 8, namun mutan UV-B variabel 24 : 0 dan 16 : 8 ini memiliki produktivitas biomassa yang lebih besar. Hal ini menunjukkan bahwa produktivitas biomassa tidak hanya dipengaruhi oleh laju pertumbuhan sel melainkan juga massa sel, dalam penelitian ini ketiga variabel mutan UV-B memiliki massa sel yang lebih besar dibanding ketiga variabel alami. Produktivitas biomassa yang tinggi akan dihasilkan jika mikroalga memiliki pertumbuhan sel yang tinggi dan massa sel yang besar. Sedangkan untuk produktivitas lipid terbesar dimiliki oleh *B.braunii* alami variabel 24 : 0 sebesar 0,021 mg/ml/hari, disusul oleh alami variabel 16 : 8 dan 12 : 12

yang memiliki produktivitas lipid sama sebesar 0,008 mg/ml/hari. Produktivitas lipid terendah dimiliki oleh mutan UV-B variabel 12 : 12 sebesar 0,001 mg/ml/hari. Jika dibandingkan ternyata *B.braunii* alami ketiga variabel memiliki produktivitas lipid yang lebih besar dibanding ketiga variabel mutan UV-B. Tinggi rendahnya produktivitas lipid tidak hanya dipengaruhi oleh produktivitas biomassa melainkan juga dipengaruhi oleh konsentrasi lipid yang dihasilkan. Produktivitas biomassa yang tinggi tidak menjamin akan menghasilkan produktivitas lipid yang tinggi pula. Hal ini dibuktikan dengan hasil yang didapat dimana ketiga variabel mutan UV-B memiliki konsentrasi lipid yang lebih rendah dibanding ketiga variabel alami. Walaupun produktivitas biomassa mutan UV-B variabel 24 : 0 dan 16 : 8 berturut-turut merupakan yang terbesar setelah alami variabel 24 : 0, namun karena keduanya memiliki konsentrasi lipid yang rendah menyebabkan produktivitas lipidnya juga rendah.

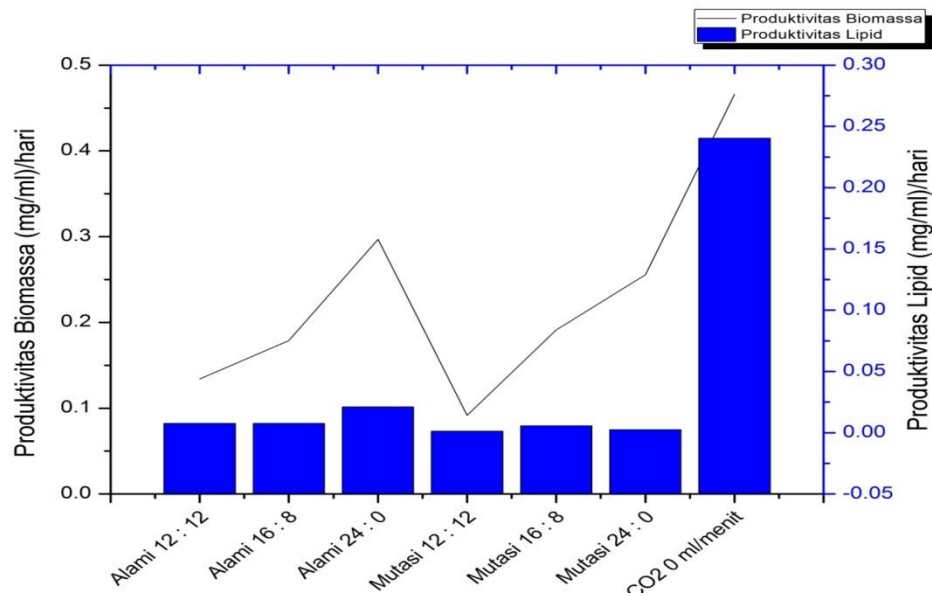
Hasil produktivitas biomassa dan lipid yang didapat dalam penelitian ini kemudian dibandingkan dengan hasil yang telah didapat dalam penelitian sebelumnya oleh Helmi-Dinny (2012) mengenai pengaruh kadar CO₂ terhadap pertumbuhan dan produktivitas lipid mikroalga *B.braunii* alami dan Termutasi UV-B. Perbandingan hasil yang didapat disajikan dalam **Gambar IV.4**. Berdasarkan **Gambar IV.4** terlihat bahwa hasil produktivitas lipid dan produktivitas biomassa dalam penelitian ini lebih rendah dibanding penelitian sebelumnya. Perbedaan ini disebabkan konsentrasi sel awal saat hari ke 0 yang berbeda, dimana pada penelitian sebelumnya, konsentrasi sel pada hari ke 0 lebih tinggi 10 kali lipat dibanding penelitian saat ini. Selain itu pada penelitian saat ini, hasil *lipid content* lebih rendah 10 kali lipat dibandingkan penelitian sebelumnya. Kondisi yang berbeda inilah yang menyebabkan produktivitas lipid dan biomassa yang dihasilkan juga berbeda antara penelitian ini dengan penelitian sebelumnya. Selain itu, salah satu faktor pembeda yang mempengaruhi hasil biomassa dan lipid yaitu waktu kultur. Dalam penelitian ini kultur dilakukan selama 10 hari, berbeda

dengan penelitian sebelumnya dimana kultur dilakukan dalam waktu yang lebih lama yaitu selama 20 hari. Waktu kultur akan sangat mempengaruhi biomassa dan lipid. Total lipid *B.braunii* meningkat seiring meningkatnya waktu kultur. *B.braunii* yang dikultur selama 20 – 40 hari secara signifikan memiliki biomassa yang lebih tinggi dibanding 10 hari kultur, namun tidak ada perbedaan antara waktu kultur 20, 30 dan 40 hari. Konsentrasi lipid tertinggi dan hasil produktivitas lipid tertinggi diperoleh saat 20 hari kultur. Konsentrasi lipid yang diperoleh setelah 20 hari kultur secara signifikan lebih tinggi dibanding kultur dalam waktu yang lebih lama. (Ruangsomboon, 2012). Zhila et al. (2011) juga telah mengamati bahwa *B.braunii* memiliki *lipid content* yang lebih rendah saat 13 hari kultur dibanding dengan 3 hari kultur. Kalacheva et al. (2013) melaporkan bahwa *lipid content* sel *B.braunii* saat tumbuh secara aktif akan rendah dan akan meningkat saat fase pertumbuhan stasioner. Selain itu, faktor *moisture content* juga berpengaruh terhadap proses ekstraksi karena kandungan air yang tinggi dapat menjadi penghalang (*barrier*) bagi pelarut untuk berpenetrasi ke dalam biomassa sehingga proses ekstraksi tidak berjalan maksimal. Dalam penelitian ini, diduga biomassa mikroalga kering masih memiliki *moisture content* yang tinggi. Hal ini dapat diketahui dari proses penimbangan biomassa kering yang tidak dapat konstan.

(Ashokkumar, 2014)

Tabel IV.7 Perhitungan Produktivitas Biomassa dan Lipid Variabel Siklus Pencahayaan

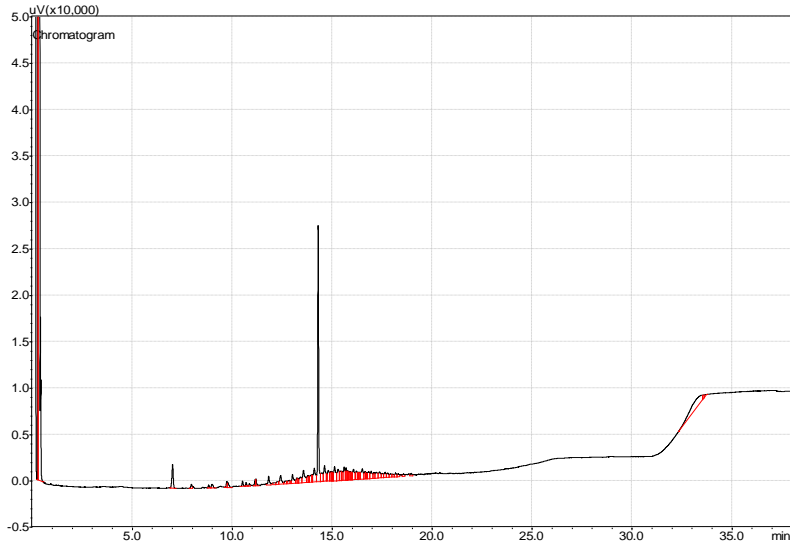
Parameter	Satuan	Alami			Mutan UV-B		
		12:12	16:8	24:0	12:12	16:8	24:0
Jumlah Sel Awal	Juta Sel/ml	10,2	10,2	10,2	12	12	12
Jumlah Sel Akhir setelah 10 Hari	Juta Sel/ml	77,2	84,8	119,2	37,2	65	86,5
Δ (Sel Akhir–Sel Awal)/hari	(Juta Sel/mL)/hari	6,7	7,467	10,9	2,516	5,3	7,45
Massa Sel	10^{-8} mg/sel	2,001	2,392	2,723	3,642	3,605	3,433
Produktivitas Biomassa	(mg/ml)/hari	0,134	0,179	0,297	0,092	0,191	0,256
Lipid Content (<i>Lipid extract/sampel</i>)	% (w/w)	5,672	4,297	7,078	1,399	2,919	0,950
Produktivitas Lipid	(mg/ml)/hari	0,008	0,008	0,021	0,001	0,006	0,002



Gambar IV.4 Produktivitas Biomassa dan Lipid *B.braunii* Alami dan Mutan UV-B Variabel Siklus Pencahayaan dan Variabel CO₂

IV.4 Analisa GC (*Gas Chromatography*)

Analisa GC digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa dari lipid mikroalga alami dan mutan. Hasil analisa pada mikroalga alami variabel 24 : 0 terlihat pada **Gambar IV.5** berikut.



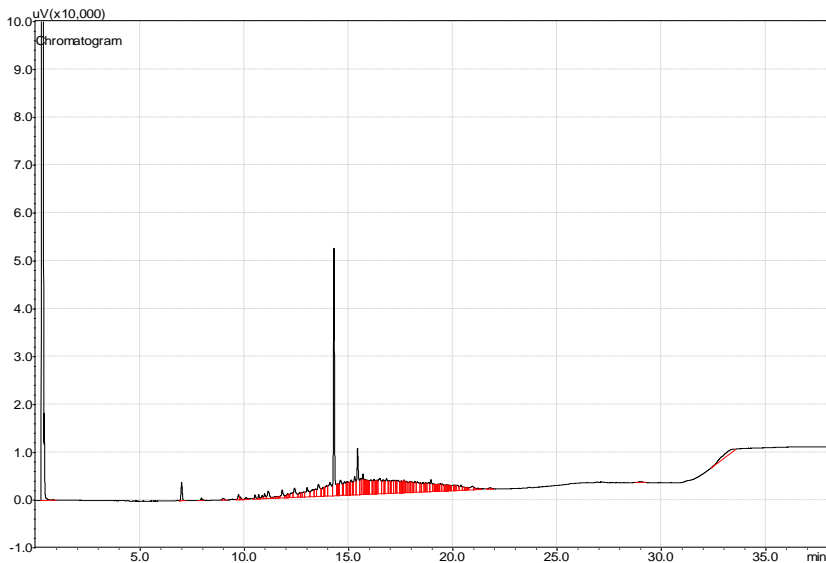
Gambar IV.5 Hasil GC Lipid Mikroalga Alami Variabel 24 : 0

Hasil analisa GC menunjukkan adanya beberapa senyawa yang terkandung dalam lipid mikroalga alami seperti yang terdapat pada **Tabel IV.8** berikut.

Tabel IV.8 Komposisi Senyawa Lipid Mikroalga Alami Variabel 24 : 0

No	Nama Komponen	Range Retention Time	Quality
1.	Asam lemak bebas (FFA)	11,009 – 14,126	19,42 %
2.	Monoacylglycerol (MAG)	14,341 – 15,735	21 %
3.	Diacylglycerol (DAG)	20,059 – 21,864	-
4.	Triacylglycerol (TAG)	26,756 – 35,687	10,88 %

Untuk hasil analisa GC pada mikroalga mutan variabel 16 : 8 terlihat pada **Gambar IV.6** berikut.



Gambar IV.6 Hasil GC Lipid Mikroalga Mutan Variabel 16 : 8

Hasil analisa GC menunjukkan adanya beberapa senyawa yang terkandung dalam lipid mikroalga mutan seperti yang terdapat pada **Tabel IV.9** berikut.

Tabel IV.9 Komposisi Senyawa Lipid Mikroalga Mutan Variabel 16 : 8

No	Nama Komponen	Range Retention Time	Quality
1.	Asam lemak bebas (FFA)	11,009 – 14,126	15,44 %
2.	Monoacylglycerol (MAG)	14,341 – 15,735	18,5 %
3.	Diacylglycerol (DAG)	20,059 – 21,864	4,18 %
4.	Triacylglycerol (TAG)	26,756 – 35,687	2,72 %

Dari kedua hasil GC di atas, baik analisa GC untuk mikroalga alami maupun mikroalga mutan, menunjukkan kandungan asam lemak bebas (FFA) yang lebih besar dibanding kandungan TAG nya. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa lipid yang dihasilkan dari mikroalga memiliki kandungan FFA yang besar. Kandungan FFA yang tinggi ini baik untuk digunakan sebagai bahan baku biodiesel melalui proses esterifikasi menggunakan katalis asam dan transesterifikasi menggunakan katalis basa.

(Ashokkumar, 2014)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan analisa yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan :

1. Mikroalga alami variabel 24 : 0 jam memiliki pertumbuhan sel paling pesat yaitu sebesar 10,9 (juta sel/mL)/hari dan mikroalga mutan variabel 12 : 12 jam memiliki pertumbuhan sel paling rendah yaitu 2,516 (juta sel/mL)/hari.
2. Massa sel yang dihasilkan mikroalga mutan lebih besar dibanding mikroalga alami. Massa sel terbesar dihasilkan oleh mikroalga mutan variabel 12 : 12 yaitu $3,642 \times 10^{-8}$ mg/sel dan massa sel terkecil dihasilkan oleh mikroalga alami variabel 12 : 12 yaitu $2,001 \times 10^{-8}$ mg/sel.
3. Siklus pencahayaan 24 : 0 jam dapat meningkatkan produktivitas biomassa mikroalga alami dan mutan dibanding variabel siklus pencahayaan lainnya. Produktivitas biomassa terbesar didapatkan pada mikroalga alami variabel 24 : 0 yaitu 0,297 (mg/mL)/hari.
4. Produktivitas lipid paling tinggi dihasilkan oleh mikroalga alami variabel 24 : 0 yaitu 0,021 (mg/mL)/hari.
5. Hasil analisa GC menunjukkan kandungan asam lemak bebas (FFA) yang lebih besar dibandingkan komponen lainnya. Kandungan FFA ntuk mikroalga alami adalah 19,42 % dan mikroalga mutan adalah 15,44 %.

V.2 Saran

Sebagai rekomendasi untuk penelitian-penelitian berikutnya, perlu dilakukan hal-hal sebagai berikut :

1. Menggunakan metode ekstraksi dan pelarut yang berbeda agar mendapatkan lipid yang maksimal.

2. Melakukan kultur lebih lama agar strain lebih pekat dan jumlah sel yang tinggi sehingga diperoleh biomassa dan lipid yang lebih banyak.
3. Menggunakan kertas saring dengan ukuran *pore size* lebih kecil daripada ukuran mikroalga agar tidak ada mikroalga yang lolos saat proses penyaringan.
4. Dalam melakukan mutasi menggunakan Sinar UV-B, membuat wadah mikroalga yang sesuai dengan bentuk lampu, agar merata dalam pemaparan sinar UV-B.

DAFTAR PUSTAKA

- Amini, S. and Susilowati R.**2010."Produksi Biodiesel dari Mikroalga *Botryococcus braunii*".*Squalen*, 27.
- Ashokkumar, V., et al.**2014."Optimization and Characterization of Biodiesel Production from Microalgae *Botryococcus braunii* at Semi-Continuous System".*Energy Conversion and Management*, 936-946.
- Benson.**2001."Microbiological Application".New York : McGraw Hill Publisher.
- Bharathiraja, B., et al.**2015."Aquatic Biomass (Algae) as A Future Feed Stock for Bio-Refineries : A Review on Cultivation, Processing and Products".*Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 636.
- Chisti, Y.**2007."Biodiesel from Microalgae".*Biotechnology Advances*, 294-306.
- Chiu, S.Y., et al.**2009."Lipid Accumulation and CO₂ Utilization of *Nannochloropsis oculata* in Response to CO₂ Aeration".*Bioresource Technology*, 833-838.
- Dayananda, C., et al.**2007."Isolation and Characterization of Hydrocarbon Producing Green Alga *Botryococcus braunii* from Indian Freshwater Bodies".*Electronic Journal of Biotechnology*, 79-81.
- Ge, Y., et al.**2011."Growth Characteristic of *Botryococcus braunii* 765 Under High CO₂ Concentration in Photobioreactor".*Bioresource Technology*, 130-134.
- Gunzler, H. and Williams A.**2001."Handbook of Analytical Technique".Weinheim : Wiley-VCH.
- Hadiyanto and Azim, M.**2012."Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan".Semarang : UPT UNDIP Press.
- Kumar, R.R., et al.**2015."Lipid Extraction Methods from Microalgae : A Comprehensive Review".*Frontiers in Energy Research*, 2.

- Lee, S.J., et al.**1998."Effects of Harvesting Method and Growth Stage on the Flocculation of the Green Alga *Botryococcus braunii*".*The Society for Applied Microbiology*, 14-18.
- Madigan, et al.**2012."Biology of Microorganisms".San Fransisco : Pearson Education,Inc.
- Mubarak, M., et al.**2015."A Review on the Extraction of Lipid from Microalgae for Biodiesel Production".*Algal Research*, 118.
- Nalewajko, C., et al.**1996."Effects of pH on Growth, Photosynthesis, Respiration, and Copper Tolerance of Three *Scenedesmus* Strains".*Enviromental and Experimental Botany*, 153-160.
- Nielsen, S.S.**2010."Food Analysis Fourth Edition".London : Springer.
- Rao, A.R., et al.**2007."Influence of CO₂ on Growth and Hydrocrabon Production in *Botryococcus braunii*".*Journal of Microbiology and Biotechnology*, 414-419.
- Rao, A.R., et al.**2012."Cultivation of Green Alga *Botryococcus braunii* in Raceway, Circular Ponds Under Outdoor Conditions and its Growth, Hydrocarbon Production".*Bioresource Technology*, 528-533.
- Ruangsomboon, S.**2012."Effect of Light, Nutrient, Cultivation Time and Salinity on Lipid Production of Newly Isolated of the Green Microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2".*Bioresource Technology*, 261-265.
- Ruangsomboon, S., et al.**2017."Enhanced Growth and Hydrocarbon Production of *Botryococcus braunii* KMITL 2 by Optimum Carbon Dioxide Concentration and Concentration-Dependent Effects on its Biochemical Composition and Biodiesel Properties".*Bioresource Technology*, 14-16.
- Sekar, S., et al.**2009."Investigations on Ultraviolet Light and Nitrous Acid Induced Mutations of Halotolerant Bacterial Strains for the Treatment of Tannery Soak

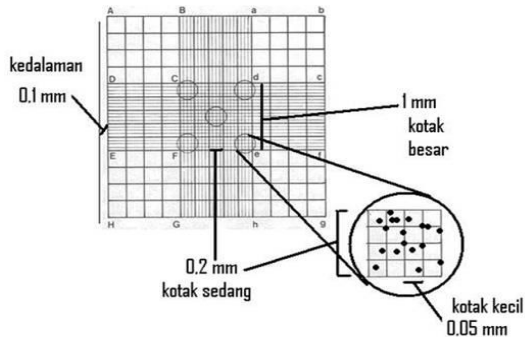
- Liquor". *International Biodeterioration & Biodegradation*, 176-181.
- Sharma, K.K., et al.**2012."High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production". *Energies*, 1533-1535.
- Skerratt, J.H., et al.**1997."Effect of UV-B on Lipid Content of Three Antarctic Marine Phytoplankton". *Phytochemistry*, 999.
- Smith, R.C., et al.**1992."Ozone Depletion : Ultraviolet Radiation and Phytoplankton Biology in Antarctic Waters". *JSTOR*, 952-957.
- Tasic, M.B., et al.**2016." *Botryococcus braunii* for Biodiesel Production". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 260-270.
- Day, R. A. Jr. and Underwood, A.L.**2002."Analisis Kimia Kuantitatif.Jakarta : Erlangga.
- Verma, N.M., et al.**2009."Prospective of Biodiesel Production Utilizing Microalgae as the Cell Factories : A Comprehensive Discussion". *African Journal of Biotechnology*, 1403.
- Widaja, A., et al.**2009."Study of Increasing Lipid Production from Fresh Water Microalgae *Chlorella vulgaris*". *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 40, 13-20.
- Xue, L., et al.**2005."Effects of Enhanced Ultraviolet-B Radiation on Algae and Cyanobacteria". *Critical Reviews in Microbiology*, 79-89.
- Zhang, K. and Kojima, E.**1998."Effect of Light Intensity on Colony Size of Microalga *Botryococcus braunii* in Bubble Column Photobioreactors". *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 573-576.
- Zul, D., et al.**2003."Mutagenesis pada *Kluyveromyces Marxianus* T-2 Penghasil Inulinase Ekstraselular dengan Sinar Ultra Violet". *Jurnal Natur Indonesia*, 26.

DAFTAR NOTASI

No	Notasi	Keterangan	Satuan
1.	A	Luas Kotak Hemasitometer	mm ²
2.	d	Tebal Hemasitometer	mm
3.	M	Molaritas	Molar
4.	MR	Berat Molekul	-
5.	m	Massa	Gram
6.	n	Jumlah Mol	Mol
7.	V	Volume	mL

APPENDIKS

1. Perhitungan *Counting Chamber*



Dalam analisa *counting chamber* digunakan 5 kotak besar yang tiap kotaknya memiliki luas berukuran 0,04 mm². Terlebih dahulu ditentukan 5 kotan yang akan dihitung jumlah sel yang terkandung dalam 5 kotak tersebut.

A				B
		C		
D				E

Contoh perhitungan pre kultur alami

Jam ke	Run ke	A	B	C	D	E	Total	Jumlah Sel Rata-Rata / Kotak
24	I	7	6	5	4	9	31	6,2
	II	6	7	7	10	7	37	7,4
	III	8	7	7	8	10	40	8
Jumlah								21,6

Diketahui :

Faktor pengenceran = 10

Tebal hemasitometer = 0,1 mm

Jumlah sel / kotak = $21,6 / 3 = 7,2$ sel / kotak

Jumlah sel / mm³ = $7,2 \frac{\text{sel}}{\text{kotak}} \times \frac{1 \text{ kotak}}{0,04 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{0,1 \text{ mm}} \times 10$
 = 18.000 sel / mm³

Jumlah sel / mL = $18.000 \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}}$
 = 18.000.000 sel / mL

Perhitungan pre kultur mikroalga alami dan mutasi selama 3 hari

Jam ke	Mikroalga alami		Mikroalga mutasi	
	Sel/mm ³	Sel/mL	Sel/mm ³	Sel/mL
0	11.833	11.833.333	8.722	8.722.222
24	18.000	18.000.000	11.833	11.833.333
48	20.666	20.666.667	7.500	7.500.000
72	25.500	25.500.000	10.333	10.333.333

2. Persen Kematian

Perlu dilakukan perhitungan persen kematian untuk mengetahui berapa banyak alga yang mati terkena radiasi sinar UV-B

Rumus persen kematian :

$$\% \text{kematian} = \frac{\text{sebelum disinari UVB} - \text{setelah disinari UVB}}{\text{sebelum disinari UVB}} \times 100\%$$

Run ke	Sebelum disinari UV-B	Setelah disinari UV-B	%kematian
I	11.833.333	8.500.000	28,17
II		9.000.000	23,94
III		8.666.667	26,76

3. Perhitungan Jumlas Sel dan Pengukuran pH

Pada variabel penambahan CO₂ dan siklus pencahayaan dilakukan perhitungan jumlah sel dan pengukuran pH. Untuk perhitungan jumlah sel menggunakan analisa *counting chamber* dan pengukuran pH menggunakan kertas pH

- Mikroalga *B.braunii* alami

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 12 : 12 jam

Hari	Jumlah Sel		pH
	Jumlah Sel / Kotak	Sel / mL	
0	4,07	10.166.667	8
1	6,4	16.000.000	7
2	7	17.500.000	7
3	9,67	24.166.667	7
4	10,4	26.000.000	7
5	13,27	33.166.667	7
6	15	37.500.00	7
7	17,33	43.333.333	7
8	21,93	54.833.333	7
9	29,07	72.666.667	7
10	30,87	77.166.667	7

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 16 : 8 jam

Hari	Jumlah Sel		pH
	Jumlah Sel / Kotak	Sel / mL	
0	4,07	10.166.667	8
1	6,4	16.000.000	7
2	11,4	28.500.000	8

3	11,87	29.666.667	7
4	11,87	29.666.667	7
5	15,6	39.000.000	7
6	17,93	44.833.333	7
7	20,27	50.666.667	7
8	27,8	69.500.000	7
9	32,73	81.833.333	7
10	33,93	84.833.333	7

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 24 : 0 jam

Hari	Jumlah Sel		pH
	Jumlah Sel / Kotak	Sel / mL	
0	4,07	10.166.667	8
1	7,07	17.666.667	7
2	9,8	24.500.000	7
3	14,27	35.666.667	7
4	28,4	71.000.000	7
5	31,8	79.500.000	7
6	36,6	91.500.000	7
7	36,73	91.833.333	7
8	44,47	111.166.667	7
9	46,8	117.000.000	7
10	47,67	119.166.667	7

- Mikroalga *B.braunii* mutasi

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 12 : 12 jam

Hari	Jumlah Sel		pH
	Jumlah Sel / Kotak	Sel / mL	
0	4,8	12.000.000	8

1	5,33	13.333.333	7
2	5,67	14.166.667	6
3	5,73	14.333.333	7
4	6,27	15.666.667	6
5	9,73	24.333.333	7
6	10,87	27.166.667	7
7	12,2	30.500.000	7
8	12,47	31.166.667	7
9	14,6	36.500.000	7
10	14,87	37.166.667	7

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 16 : 8 jam

Hari	Jumlah Sel		pH
	Jumlah Sel / Kotak	Sel / mL	
0	4,8	12.000.000	8
1	5,33	13.333.333	7
2	5,87	14.666.667	6
3	7,6	19.000.000	7
4	9,93	24.833.333	7
5	14,93	37.333.333	7
6	19	47.500.000	7
7	19	47.500.000	7
8	18,6	46.500.000	7
9	24,53	61.333.333	7
10	26	65.000.000	7

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 24 : 0 jam

Hari	Jumlah Sel		pH
	Jumlah Sel / Kotak	Sel / mL	
0	4,8	12.000.000	8

1	5,67	14.166.667	7
2	6,2	15.500.000	7
3	9,27	23.166.667	7
4	17,2	43.000.000	7
5	22,73	56.833.333	7
6	26,47	66.166.667	7
7	30,6	76.500.000	7
8	31,87	79.666.667	7
9	34,8	87.000.000	7
10	34,6	86.500.000	7

4. Pengukuran %T dan Perhitungan OD

Rumus perhitungan *Optical Density* (OD)

$$OD = 2 - \log \%T$$

- Mikroalga *B.braunii* alami

Tabel pengukuran %T dan perhitungan OD

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 12 : 12 jam

Hari	%T	OD
0	26,27	0,581
1	18,93	0,723
2	11,53	0,938
3	8,5	1,071
4	6,13	1,212
5	4,33	1,363
6	3,7	1,432
7	3,2	1,495
8	2,4	1,620
9	2	1,699
10	1,8	1,745

Tabel pengukuran %T dan perhitungan OD
Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 16 : 8 jam

Hari	%T	OD
0	26,27	0,581
1	14,1	0,851
2	7,3	1,137
3	5,7	1,244
4	4,1	1,387
5	2,8	1,553
6	2,1	1,678
7	1,8	1,745
8	1,4	1,854
9	1,1	1,959
10	1	2

Tabel pengukuran %T dan perhitungan OD
Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 24 : 0 jam

Hari	%T	OD
0	26,27	0,581
1	15,2	0,818
2	5,4	1,268
3	3,33	1,477
4	1,8	1,745
5	1,3	1,886
6	1	2
7	0,8	2,097
8	0,6	2,222
9	0,5	2,301
10	0,4	2,398

- Mikroalga *B.braunii* mutasi

Tabel pengukuran %T dan perhitungan OD
Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 12 : 12 jam

Hari	%T	OD
0	26,1	0,583
1	22,5	0,648
2	18,23	0,739
3	15,43	0,812
4	13,9	0,857
5	11,27	0,896
6	8,8	1,007
7	7,57	1,121
8	5,8	1,237
9	5,1	1,292
10	4,6	1,337

Tabel pengukuran %T dan perhitungan OD
Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 16 : 8 jam

Hari	%T	OD
0	26,1	0,583
1	19,27	0,715
2	13,7	0,863
3	10,17	0,993
4	6	1,222
5	3,7	1,432
6	2,7	1,569
7	2,1	1,678
8	1,7	1,770
9	1,4	1,854
10	1,1	1,959

Tabel pengukuran %T dan perhitungan OD
Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 24 : 0 jam

Hari	%T	OD
0	26,1	0,583
1	21,8	0,662
2	11,57	0,937
3	6,73	1,172
4	3,3	1,481
5	2	1,699
6	1,4	1,854
7	1,1	1,959
8	0,9	2,046
9	0,8	2,097
10	0,8	2,097

5. Perhitungan Konsentrasi Biomassa

Untuk mengetahui biomassa mikroalga dapat dilakukan analisa biomassa yaitu dengan persamaan berikut :

$$\text{Konsentrasi biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}}$$

Maka berdasarkan hasil penelitian kami, diperoleh data biomassa dalam 10 hari kultur :

- **Mikroalga *B.braunii* alami**

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 12 : 12 jam

$$\text{Biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}} = \frac{0,772}{0,5} = 1,544 \text{ g/L}$$

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 16 : 8 jam

$$\text{Biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}} = \frac{1,015}{0,5} = 2,030 \text{ g/L}$$

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 24 : 0 jam

$$\text{Biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}} = \frac{1,622}{0,5} = 3,245 \text{ g/L}$$

- **Mikroalga *B.braunii* mutasi**

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 12 : 12 jam

$$\text{Biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}} = \frac{0,677}{0,5} = 1,354 \text{ g/L}$$

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 16 : 8 jam

$$\text{Biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}} = \frac{1,172}{0,5} = 2,344 \text{ g/L}$$

Variabel siklus pencahayaan terang : gelap = 24 : 0 jam

$$\text{Biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}} = \frac{1,485}{0,5} = 2,970 \text{ g/L}$$

6. Perhitungan Produktivitas Biomassa

Rumus perhitungan produktivitas biomassa

$$\frac{(\text{sel akhir} - \text{sel awal}) \text{ sel/mL}}{10 \text{ hari}} \times \frac{\text{konsentrasi biomassa } (\frac{\text{mg}}{\text{mL}})}{\text{konsentrasi sel } (\frac{\text{sel}}{\text{mL}})}$$

Produktivitas biomassa *B.braunii* alami variabel 12 : 12 jam

$$\begin{aligned} &= \frac{(\text{sel akhir} - \text{sel awal}) \text{ sel/mL}}{10 \text{ hari}} \times \frac{\text{konsentrasi biomassa } (\frac{\text{mg}}{\text{mL}})}{\text{konsentrasi sel } (\frac{\text{sel}}{\text{mL}})} \\ &= \frac{(77.166.667 - 10.166.667) \text{ sel/mL}}{10 \text{ hari}} \times 2,0013 \times 10^{-8} \\ &= 0,134 \text{ (mg/ml)/hari} \end{aligned}$$

Tabel Produktivitas Biomassa per Hari

Perhitungan Sel Awal dan Sel Akhir

No	Jenis	Sel Awal	Sel Akhir
1	Alami 12 : 12 jam	10.166.667	77.166.667
2	Alami 16 : 8 jam	10.166.667	84.833.333
3	Alami 24 : 0 jam	10.166.667	119.166.667
4	Mutasi 12 : 12 jam	12.000.000	37.166.667
5	Mutasi 16 : 8 jam	12.000.000	65.000.000
6	Mutasi 24 : 0 jam	12.000.000	86.500.000

Perhitungan Massa Sel dan Produktivitas Biomassa

No	Jenis	Massa Sel	Produktivitas Biomassa
1	Alami 12 : 12 jam	$2,001 \times 10^{-8}$	0,134
2	Alami 16 : 8 jam	$2,392 \times 10^{-8}$	0,179
3	Alami 24 : 0 jam	$2,723 \times 10^{-8}$	0,297
4	Mutasi 12 : 12 jam	$3,642 \times 10^{-8}$	0,092
5	Mutasi 16 : 8 jam	$3,605 \times 10^{-8}$	0,191
6	Mutasi 24 : 0 jam	$3,433 \times 10^{-8}$	0,256

7. Perhitungan Konsentrasi Lipid

Kandungan lipid yang diperoleh dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Konsentrasi lipid (\%)} = \frac{\text{massa lipid (gram)}}{\text{massa dry alga (gram)}} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned} &\text{Konsentrasi lipid mikroalga alami variabel 12 : 12 jam} \\ &= \frac{0,0438}{0,772} \times 100 \% \\ &= 5,672 \% \end{aligned}$$

Tabel Konsentrasi Lipid

Jenis	Massa Lipid (gram)	Massa Alga Kering (gram)	Konsentrasi Lipid (%)
Alami 12 : 12 jam	0,0438	0,772	5,672
Alami 16 : 8 jam	0,0436	1,015	4,297
Alami 24 : 0 jam	0,1148	1,622	7,078
Mutasi 12 : 12 jam	0,0095	0,677	1,398
Mutasi 16 : 8 jam	0,0342	1,172	2,918
Mutasi 24 : 0 jam	0,0141	1,485	0,950

8. Perhitungan Produktivitas Lipid

Produktivitas lipid dapat dihitung dengan persamaan :

$$\frac{\text{produktivitas biomassa} \frac{\frac{g}{L}}{\text{hari}} \times \text{konsentrasi lipid}}{100}$$

Produktivitas lipid mikroalga alami variabel 12 : 12 jam

$$= \frac{0,134 \times 5,672}{100}$$

$$= 0,0076 \text{ (g/L)/hari}$$

Tabel Perhitungan Produktivitas Lipid

Jenis	Produktivitas Biomassa	Konsentrasi Lipid	Produktivitas Lipid
Alami 12 : 12 jam	0,134	5,672	0,0076
Alami 16 : 8 jam	0,179	4,297	0,0077
Alami 24 : 0 jam	0,297	7,078	0,0210

Mutasi 12 : 12 jam	0,092	1,398	0,0013
Mutasi 16 : 8 jam	0,191	2,918	0,0056
Mutasi 24 : 0 jam	0,256	0,950	0,0024

RIWAYAT HIDUP PENULIS I



Cecilia, anak perempuan tunggal dari tiga bersaudara lahir di Surabaya, pada tanggal 6 Mei 1995.

Penulis mulai mengenyam pendidikan di SD Setia Budhi (2001-2007), SMPK Angelus Custos (2007-2010), SMAK Frateran (2010-2013), dan S1 Teknik Kimia FTI – ITS (2013-2017).

Selama menjadi mahasiswa di Teknik Kimia ITS penulis pernah aktif di Persekutuan Doa Teknik Kimia FTI ITS sebagai Staff Fund Raising Division (2014-2015) dan Staff Event Section PMK ITS (2014 – 2015). Selain itu penulis pernah menjadi Asisten Praktikum Mikrobiologi Industri 2017.

Penulis berharap dengan adanya skripsi ini dapat memberikan informasi, inspirasi serta ilmu pengetahuan bagi orang-orang yang sedang melakukan penelitian, terutama truntuk mahasiswa ITS. Apabila ingin berdiskusi atau berhubungan dengan penulis mengenai isi skripsi ini, dapat melalui email ke cecilpriyanto95@gmail.com, via line [cecil95](https://www.whatsapp.com/channel/00291111111111111111), atau via HP/WA 087851952515.

RIWAYAT HIDUP PENULIS II



Wahyu Dwi Kristian, pemuda kelahiran Mojokerto, 30 Juli 1995, merupakan anak bungsu dari 2 bersaudara.

Penulis telah menempuh pendidikan formal diantaranya TK Dharma Wanita I Pulorejo (2000-2001), SDN Pulorejo II (2001-2007), SMPN 1 Dawarblandong (2007-2010), SMAN 1 Dawarblandong (2010-2013), S1 Teknik Kimia FTI – ITS (2013-2017).

Selama menempuh pendidikan sebagai mahasiswa, penulis pernah aktif di Organisasi Kerohanian Jurusan dan Kampus. Penulis pernah menjadi Staff Divisi Persekutuan PDKK (2014-2015) dan Ketua PDKK Teknik Kimia (2015-2016). Penulis juga pernah menjadi Staff Divisi Persekutuan PMK ITS (2015-2016) dan Koordinator Divisi Persekutuan PMK ITS (2016-2017). Selain itu penulis juga pernah menjadi Asisten Praktikum Laboratorium Kimia Organik 2016.

Motto yang dipegang penulis selama ini adalah “Do the Truth, Come What May”

Untuk berhubungan dengan penulis, dapat berkirim email ke wahyudekails@gmail.com , ID line wahyudekails, no hp/ Whats app +6281249018289, Facebook Wahyu Dwi Kristian.